

Aplicación de enmiendas orgánicas y biochars derivados de la industria oleícola en el cultivo del arroz: influencia en la dinámica de plaguicidas y en propiedades agronómicas.



Directoras

Dra. Dña. Lucía Cox Meana
Investigador Científico CSIC

Dra. Dña. M.C. Hermosín Gaviño
Profesora de Investigación CSIC



Tutora

Dra. Dña. Elena Fernández Boy
Profesora titular Univ. Sevilla

Memoria presentada por

Manuel García – Jaramillo Rodríguez

Para optar al título de Doctor por la Universidad de Sevilla.

RESUMEN	7
---------	---

SUMMARY	8
---------	---

CAPÍTULO I

I.1. INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1.1. Uso de plaguicidas en el cultivo del arroz en el sur de España.	11
---	-----------

I.1.1.1. El arroz en Andalucía.

I.1.1.2. Tratamientos aplicados al cultivo del arroz.

I.1.2. Dinámica de los plaguicidas en el suelo.	14
--	-----------

I.1.2.1. Procesos de adsorción – desorción.

I.1.2.2. Lixiviación.

I.1.2.3. Escorrentía.

I.1.2.4. Otros procesos de transporte.

I.1.2.5. Procesos de transformación o degradación.

I.1.3. Estructura y porosidad del suelo.	30
---	-----------

I.1.3.1. Generalidades.

I.1.3.2. La estructura de los coloides organominerales.

I.1.3.3. Porosidad de sólidos: adsorción física de gases y porosimetría de mercurio.

I.1.3.4. Estudio de la porosidad.

I.1.3.5. Cambios en la porosidad de suelos enmendados.

I.1.4. La materia orgánica del suelo.	34
--	-----------

I.1.4.1. La fracción orgánica.

I.1.4.2. Materia orgánica soluble (MOS). Concepto y clasificaciones.

I.1.4.3. Obtención de la MOS para su estudio.

I.1.4.4. Cuantificación y caracterización de la MOS.

I.1.5. Enmiendas orgánicas.	39
I.1.5.1. Tipos de enmiendas orgánicas.	
I.1.5.2. Alperujo y compost de alperujo.	
I.1.5.3. Interacción de la MOS del suelo con la de las enmiendas orgánicas.	
I.1.5.4. Influencia en la dinámica de plaguicidas.	
I.1.6. Biochars y su empleo en el manejo ambiental.	42
I.1.6.1. Origen y evolución en su estudio y aplicación.	
I.1.6.2. Principales aplicaciones y ventajas derivadas de su producción y aplicación.	
I.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	47
I.3. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS DE LA TESIS	48

CAPÍTULO II

Effects of soil organic amendments on the behavior of bentazone and tricyclazole. (Published in <i>Science of the Total Environment</i>).	53
--	-----------

CAPÍTULO III

Effects of azimsulfuron on soil functions under oxic and anoxic conditions as affected by amendment with green waste compost. (Manuscript in preparation).	73
--	-----------

CAPÍTULO IV

Effects of alperujo compost on soil properties, rice growth, microbial diversity and tricyclazole dissipation under paddy field conditions. (Submitted to <i>Agriculture, Ecosystems and Environment</i>).	93
---	-----------

CAPÍTULO V

Characterization and selection of biochar for an efficient retention of tricyclazole in a flooded alluvial paddy soil.

(Published in *Journal of Hazardous Materials*).

113

CAPÍTULO VI

Effects of biochar addition on the sorption of azimsulfuron and penoxsulam in paddy soils.

135

(Manuscript in preparation).

CAPÍTULO VII

VII.1. DISCUSIÓN GENERAL

155

VII.1.1. Efectos agronómicos del compost de alperujo bajo condiciones de inundación.

VII.1.2. Efecto sobre la dinámica de plaguicidas en cultivos de arroz.

VII.1.3. Idoneidad de la enmienda con compost de alperujo o biochars producidos a partir del mismo en suelos dedicados al cultivo de arroz.

VII.2. CONCLUSIONES

163

VII.3. CONCLUSIONS

165

VII.4. REFERENCIAS

167

Agradecimientos

201

RESUMEN

La presencia de plaguicidas procedentes de cultivos en aguas subterráneas y superficiales es hoy día un hecho constatado y de creciente preocupación. El riesgo de contaminación se agrava cuando el empleo de plaguicidas es continuado y más aún cuando se trata de zonas de monocultivos en los que se aplica inundación, como es el caso del arroz. El uso de productos fitosanitarios en el cultivo de arroz supone un escenario de alto riesgo, que da lugar a numerosos episodios de contaminación de aguas con los problemas que esto conlleva para la salud pública y el medio ambiente. Numerosos estudios ponen de manifiesto las ventajas del uso de enmiendas orgánicas para evitar pérdidas de herbicidas por escorrentía o por lixiviación. La aplicación de enmiendas supone un aumento considerable del contenido en materia orgánica del suelo, favoreciendo en muchos casos la adsorción de plaguicidas y de metabolitos derivados de la degradación parcial del mismo. Entre los residuos sólidos empleados como enmiendas orgánicas, los procedentes de almazara han sido previamente aplicados al olivar obteniéndose resultados muy positivos. Sin embargo, existen pocos estudios sobre su posible aplicación a cultivos de arroz. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto que la adición al suelo de residuos orgánicos derivados de la industria oleícola, compostados y/o tras un proceso de pirolisis (obtención de biochar), ejerce en la dinámica de diferentes plaguicidas utilizados en el cultivo del arroz bajo condiciones de inundación. Asimismo, se ha estudiado el efecto de dichas enmiendas sobre las propiedades edáficas y sobre el rendimiento del cultivo. Con tal fin, se realizaron ensayos en condiciones controladas de laboratorio así como en condiciones reales de campo. Entre los resultados más relevantes de este proyecto, podemos destacar el efecto positivo observado de la enmienda con compost de alperujo sobre el aparato fotosintético de las plantas de arroz, el cual se tradujo en un aumento significativo de la producción. En cuanto a la caracterización y selección de enmiendas para su aplicación en cultivos de arroz, se comprobó que uno de los factores más influyentes en la retención de los plaguicidas aplicados es el área superficial específica que muestren dichas enmiendas así como su materia orgánica soluble. La producción de biochars a partir del compost de alperujo permitió un aumento muy significativo de dicha superficie específica, el cual se tradujo en una mayor retención de algunos de los plaguicidas estudiados, como es el caso del fungicida triciclazol y de los herbicidas azimsulfuron y penoxsulam. A su vez, pudimos establecer relaciones entre el comportamiento de dichos compuestos en el suelo y las características de la materia orgánica soluble procedente de las enmiendas aplicadas, así como con la propia composición mineral de los suelos estudiados. De ese modo, se han obtenido una serie de conclusiones para cada uno de los compuestos estudiados bajo condiciones de inundación, pudiéndose establecer un uso recomendado de cada uno de los plaguicidas y enmiendas estudiadas.

SUMMARY

The presence of pesticides in ground and surface waters is now a fact and a problem of growing concern. The risk of contamination increases when pesticides are used continually and even more when it comes from monocultures implementing flood, such as paddy. The use of pesticides in rice farming is a high risk scenario, resulting in numerous episodes of contamination with all the problems that involve in public health and in the environment. At the same time, some studies have shown the benefits of using organic amendments to prevent losses of herbicides from runoff or leaching. The application of amendments represents a significant increase in organic matter content of soils, increasing in many cases the adsorption of the pesticides and the metabolites derived from them. In our group, different types of solid wastes as soil amendments have been previously studied. Those from the olive oil mill-waste have been applied to olive grove with very good results. However, there are few studies on its application to rice fields under flooded conditions. The aim of this study was to evaluate the effect of amending with organic residues, composted and/or after a pyrolysis process (biochar making), on the dynamic of several pesticides widely used in rice crops under flooded conditions. As well, we tried to evaluate the effect of these organic amendments on soil properties and over rice productivity. These objectives included assays in controlled laboratory conditions and in paddy field conditions. Among the main results obtained, we can emphasize the positive effect of alperujo compost on the photosynthesis rate of *Oryza sativa* plants. This increment also produced an increase in the yield rate of these plants. About the characterization and selection of amendments for its application in rice crops under flooded conditions, we observed that one of the main factors involved in the retention of pesticides is the specific surface area of the amendment and its content of dissolved organic matter. The production of biochars from alperujo compost resulted in an increase of the specific surface area, enhancing the adsorption of some of the studied pesticides in amended soils, as it is the case of the fungicide tricyclazole and the herbicides azimsulfuron and penoxsulam. Additionally, we established a connection of the behavior of these compounds in the soil with the molecular characteristics of the dissolved organic matter from the amendments, and the mineral composition of the studied soils. Therefore, we obtained some conclusions for the studied compounds under flooded conditions, and we proposed a recommended use for each pesticide and amendment studied under these conditions.

CAPÍTULO I

I.1. INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1.1. USO DE PLAGUICIDAS EN EL CULTIVO DE ARROZ EN EL SUR DE ESPAÑA.

I.1.1.1. El arroz en Andalucía.

Atendiendo a la superficie que ocupa y a la cantidad de personas que dependen de su cosecha, el arroz es el cultivo más importante de nuestro planeta. El arrozal abarca alrededor de 140-150 millones de ha, de las que algo más del 90% se encuentran en Asia. A la Unión Europea solamente le corresponde el 0.3% de la superficie y el 0.4% de la producción mundial, que oscila en torno a los 370 millones de toneladas. De las 450.000 ha cultivadas en la Unión Europea casi la mitad corresponden a Italia, cerca de un 23% a España, siendo Portugal, Grecia y Francia, por este orden, los que siguen en producción.

La superficie arroceras andaluza ronda las 38.000 hectáreas, salvo en los años de restricciones de agua en los que el área sembrada puede disminuir drásticamente. La casi totalidad se encuentra en la provincia de Sevilla, en la comarca de las Marismas, configurándose como un coto redondo que se extiende a ambos márgenes del río Guadalquivir. Se trata de suelos llanos, arcillosos y salinos, de origen sedimentario.

En 1990 el Consejo de Europa estableció las estrategias básicas y directrices técnicas de la producción integrada, la cual quedó definida como un sistema de producción de alimentos de alta calidad a través de métodos sostenibles, respetuosos con el medio ambiente, que mantuvieran la rentabilidad de las explotaciones agrícolas, contemplaran las demandas sociales en relación con las funciones de la agricultura y estuvieran de acuerdo con los requisitos que se establecieran para cada producto en el correspondiente Reglamento. Andalucía ha sido pionera en España y en Europa en la elaboración del Reglamento Específico de Producción Integrada de Arroz (REPIA). Actualmente, la casi totalidad del arrozal andaluz se cultiva bajo esta normativa, que entre otros elementos, restringe de forma estricta los tratamientos químicos aplicados a los cultivos.

El arrozal sevillano, colindante con el Parque Nacional de Doñana, es un ecosistema indispensable para la alimentación, protección y reproducción de la enorme riqueza de avifauna que las habita. Las prácticas de cultivo intensivo, aunque cada vez son más respetuosas con el medio ambiente, suponen un grave riesgo para el equilibrio de este frágil ecosistema. Estas prácticas suponen un elevado consumo de agua, grandes emisiones de metano, degradación de suelos, contaminación de aguas y elevado coste energético global. El trabajo que llevamos a cabo en el IRNAS, dirigido por la Dra. Lucía Cox y la Prof. María del Carmen Hermosín, está enmarcado en un proyecto del MEC que trata de fijar las bases de conocimiento necesarias para establecer la viabilidad de la producción de arroz mediante métodos de cultivo sostenibles.

I.1.1.2. Tratamientos aplicados al cultivo del arroz.

El control de plantas invasoras en el cultivo de arroz es una tarea fundamental, pues éstas compiten exitosamente por el espacio, la luz, el agua y los nutrientes. En las condiciones climáticas del sur de la Península, la lucha contra estas especies invasoras suele tener una mayor relevancia que contra plagas y enfermedades. Las especies invasoras más dañinas son especies de primavera-verano, con una actividad fotosintética y desarrollo radicular muy alto, lo cual las convierte en unas competidoras extraordinarias en la lucha por los recursos.

Herbicidas

El uso de herbicidas viene regulado por la normativa técnica específica de la producción integrada del arroz, y es revisada periódicamente por las autoridades competentes.

El arroz recibe normalmente dos tratamientos de herbicidas. El primero es contra *equinocloa* (ver Tabla I.1) y se aplica en preemergencia o, mucho más frecuentemente, en postemergencia temprana del arroz. En tablas con baja infestación de colas, que no es frecuente, puede bastar con la escarda manual. El segundo, realizado en postemergencia, va dirigido contra malas hierbas ciperáceas y de hoja ancha. Este segundo tratamiento se realiza prácticamente siempre y, además, cada vez más temprano (Aguilar M., 2010).

Tabla I.1. Principales tratamientos contra *Echinochloa sp.* en el sur de España.

Momento de aplicación	Materia Activa	Producto comercial	Dosis / ha (producto comercial)
Preemergencia o postemergencia temprana	Molinato 7,5%	Ordram 7,5 y otros	60 -70 kg
Postemergencia	Profoxidim 20%	Aura + Dash	0,5-0,75 l + 0,4-0,5 l
	Cyhalofop 200 g/l	Clincher + Pg	1,5 l + 0,5 l
	Propanil 35%	Stam y otros	10-12 l + 10-12 l
	Propanil 80%	varios	5-6 kg + 5-6 kg

Algunos agricultores optan por agrupar ambos tratamientos en una sola aplicación en postemergencia, mediante mezcla de herbicidas. El arroz no debe tratarse después de su estado fenológico de iniciación de la panícula, con el fin de evitar daños por fitotoxicidad. La mayoría de los herbicidas se aplican en junio.

Tabla I.2. Principales tratamientos contra hierbas de hoja ancha.

Materia activa	Producto comercial	Dosis/ha (prod. com.)
Bentazona 40% + MCPA 6% + MCPA 40l	Basagran M60 + Grotex	3 - 4 l + 0,5 l
Bentazona 48% + MCPA 60%	Basagran I / Zoom + Hermenon Extra	3 - 3,5 l + 0,6 l
Bensulfurón 60% + MCPA 40%	Londax 60DF / Deltax/ Forno + Grotex	85 - 100 g + 0,5 - 1 l
Propanil 48% + MCPA 60%	Stam Flo 480 + Primma Mix 60	2 - 2,25 l + 0,6 - 1 l
Cinosulfuron 20%	Setoff 20 Wg	200 - 400 g
Azimsulfurón 50% DF	Gulliver	40 g
Penoxsulam	Granite / Viper	40 g

Tratamientos contra algas

Como medio químico de control, actualmente está autorizado el uso limitado de sulfato de cobre (no se permiten dosis superiores de 1 kg/ha de cobre metal, es decir, un máximo de 4 kg/ha de producto al 25%), para evitar problemas de fitotoxicidad y, sobre todo, minimizar la contaminación ambiental.

Fungicidas

El arrozal andaluz está sometido a menos daños por enfermedades causadas por hongos que los de otras regiones productoras debido a la elevada radiación solar de nuestra región. La semilla y la plántula no suelen sufrir ataques severos. En la planta adulta las enfermedades más relevantes son causadas por los hongos *Pyricularia oryzae*, *Helminthosporium oryzae* y *Sclerotium oryzae*. La más dañina es la piriculariosis (falta o quema del arroz), que puede llegar a provocar graves pérdidas de cosecha.

Tabla I.3. Principales tratamientos contra *Pyricularia oryzae*.

Momento de aplicación	Materia Activa (%)	Producto comercial	Dosis/ha
Desde estado de zurrón hasta el de grano pastoso	Triciclazol 75%	Bim/Auriga/Fussione	0,30 kg
	Tebuconazol 25%	Folicur EW	1 l
	Plocloraz 40-45%	Atlas 40/Octagon	1 l
	Carbendazima 12,5 + Flusilazol 25%	Punch CS	0,5 kg
	Triflumizol 30%	Trifmine	0,33 kg

I.1.2. DINÁMICA DE LOS PLAGUICIDAS EN EL SUELO.

La presencia de plaguicidas en el suelo y las aguas guarda relación directa con su aplicación continuada en campos de cultivo intensivos. Una vez aplicadas, estas sustancias se ven afectadas por distintos procesos que determinan su dinámica y destino final. Estos procesos, que pueden ser de tipo físico, químico y biológico se pueden dividir en dos grupos:

1. *Procesos de transferencia o transporte:* son aquellos en los que el compuesto se desplaza de un medio a otro o dentro de un mismo medio sin experimentar cambio en su estructura y, por tanto, sigue siendo potencialmente contaminante. Entre ellos destacamos: adsorción-desorción, volatilización, lixiviación, escorrentía, absorción y difusión.
2. *Procesos de transformación:* son aquellos por los que el compuesto se transforma o degrada originando nuevos compuestos que pueden ser de igual, menor o mayor toxicidad. Entre ellos cabe destacar: degradación química, biodegradación y fotodegradación.

Una vez el plaguicida se encuentra en el suelo, estos procesos tienen lugar de manera simultánea (Zhang et al., 1993). Como fruto de su interrelación (Figura I.1.), sus efectos pueden verse potenciados o reprimidos.

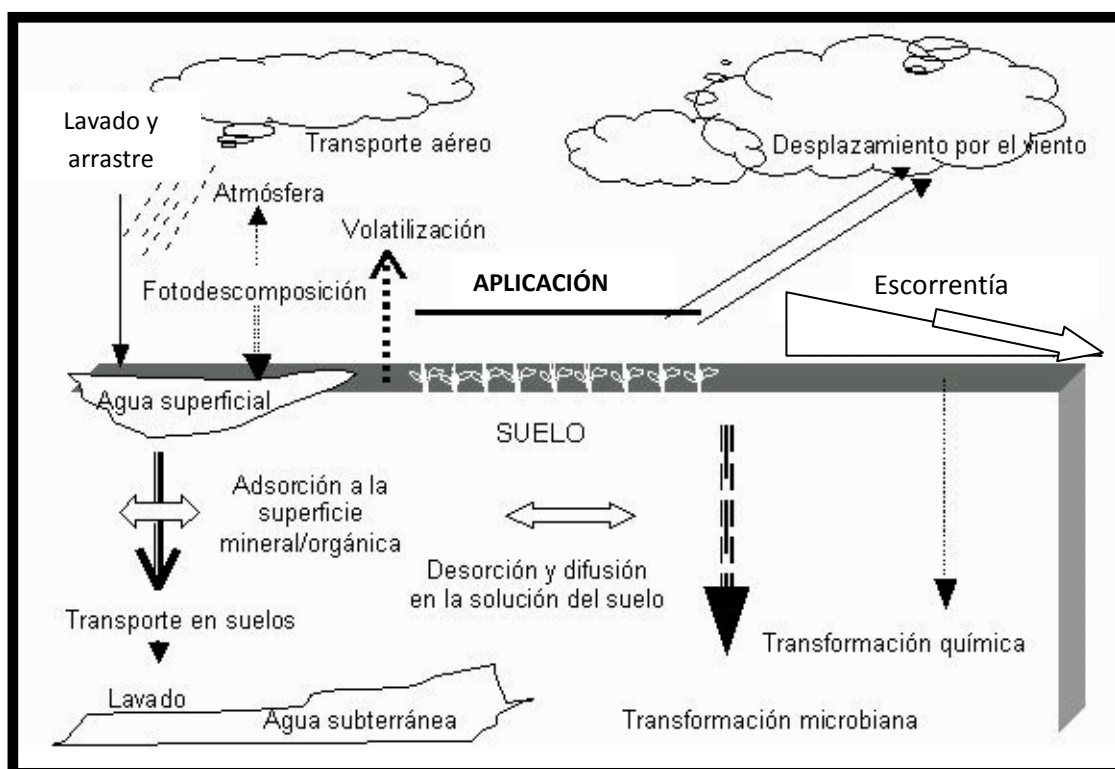


Figura I.1. Factores y procesos que afectan al comportamiento de los plaguicidas en el suelo.

El agua es el compartimento ambiental más sensible al uso de plaguicidas en la agricultura. Los residuos de estos compuestos que se encuentran en las aguas superficiales y subterráneas aumentan continuamente como resultado de su creciente y continuado empleo en agricultura y otros campos de actividad. Es un hecho que se ha puesto de manifiesto en diversos estudios de monitorización de aguas subterráneas (Chiron et al., 1995; Fernández-Gutiérrez et al., 1998; Penuela y Barceló, 1998; Frenich et al., 2001) y superficiales (Picó et al., 1994; Lampman, 1995; Sánchez-Carmanzano et al., 1995; Biziuk et al., 1996; Carabias-Martínez et al., 2000; Vidal et al., 2002; Hermosín et al., 2013), e incluso aguas tratadas para consumo humano (Serrano, 2002).

I.1.2.1. Procesos de adsorción – desorción.

La adsorción puede definirse como el paso de un compuesto desde la fase acuosa del suelo a la superficie de las partículas sólidas sin producir cambios en la composición de estas últimas, siendo la desorción el proceso inverso (Osgerby, 1970). El *adsorbato* es el compuesto que se une a la fase sólida, mientras que el *adsorbente* es la fase sólida en sí.

Las interacciones entre adsorbente y adsorbato pueden ser interacciones químicas y/o físicas entre las que podemos citar: fuerzas de van der Waals, enlace de hidrógeno, transferencia de carga, enlace iónico, cambio de ligando e interacciones hidrofóbicas.

En el proceso de adsorción de una molécula pueden intervenir varios tipos de interacciones, de tal manera que el resultado final es la suma de todas ellas. Cada una puede intervenir en una proporción diferente dependiendo de las características del suelo y de la molécula.

La *adsorción* es uno de los procesos más importantes de todos los que se pueden dar en el suelo porque va a determinar la cantidad de sustancia que queda libre y sobre la que van a actuar los demás procesos. Según Calvet (1989), la adsorción es el proceso clave que controla el transporte, la transformación química y los procesos biológicos que se van a dar sobre los compuestos orgánicos.

La *desorción*, como hemos dicho, es el paso del adsorbato del estado adsorbido a la fase líquida o gaseosa. La desorción puede ser total, en cuyo caso se habla de *adsorción reversible* (Wauchope et al., 1985), o parcial, cuando una parte del adsorbato se une de manera *irreversible* (Cox et al., 1995). La irreversibilidad o **histéresis** es un fenómeno importante, ya que determina en gran medida la biodisponibilidad del plaguicida en el suelo (Wauchope et al., 2002). Algunas de las causas de la histéresis son:

- Formación de enlaces irreversibles.
- No se alcanza equilibrio.
- Se eliminan partículas sólidas durante la desorción.
- Cambios del pH durante la desorción.
- Degradación del compuesto.
- Cristalización del compuesto.

Medidas de adsorción – desorción: isotermas.

Los procesos de adsorción y desorción de moléculas sobre la superficie de un sólido, son dinámicos e intrínsecamente relacionados, teniendo lugar de manera continuada a lo largo del tiempo, donde las moléculas orgánicas se adsorben y desorben, alcanzando un estado final denominado *equilibrio dinámico* de la adsorción. La forma más sencilla de expresar el equilibrio de adsorción de un compuesto orgánico es:



Donde C_e corresponde a la concentración del soluto en disolución y C_s a la cantidad de soluto adsorbida por unidad de masa del sólido.

La caracterización y cuantificación del proceso de adsorción requiere información relativa a la naturaleza y estado del equilibrio termodinámico que conduce a dicho proceso. Como se ha dicho anteriormente, este equilibrio se manifiesta como la distribución final del plaguicida entre la fase sólida o estado adsorbido (C_s) y la fase acuosa o estado disuelto (C_e). La relación que describe al equilibrio en unas condiciones determinadas de temperatura, pH, etc., es lo que se conoce con el nombre de **isoterma de adsorción**.

Según *Giles et al.* (1960), la mayoría de las isotermas de adsorción de compuestos orgánicos se ajustan a alguno de los cuatro tipos siguientes (Figura I.2.):

1. **Isoterma tipo S**: se pueden observar dos partes. La primera, de baja pendiente, que refleja la competencia entre las moléculas de soluto con las del disolvente, y una segunda parte, de alta pendiente, que refleja atracción entre las moléculas de soluto adsorbidas y las que siguen en la disolución, favoreciendo su adsorción.
2. **Isoterma tipo L**: la alta pendiente inicial refleja gran afinidad del soluto por el adsorbente y una mínima competencia entre las moléculas de disolvente y las de soluto por los sitios de adsorción. La disminución de la pendiente en la última parte de la curva indica la saturación de los sitios de adsorción.
3. **Isotermas tipo H**: son un caso especial de las tipo L. Indican una afinidad muy alta entre el soluto y el adsorbente, de forma que la adsorción es total incluso a concentraciones muy bajas de soluto.
4. **Isotermas tipo C**: la cantidad adsorbida es directamente proporcional a la cantidad de soluto que hay en disolución. Al ser el tipo de curva que se obtiene en el reparto de un soluto entre dos disolventes inmiscibles, algunos autores (Chiou et al., 1979; Rutherford et al., 1992) utilizan el término “partición” o “reparto del soluto” entre el adsorbente y la disolución para referirse a este tipo de isotermas.

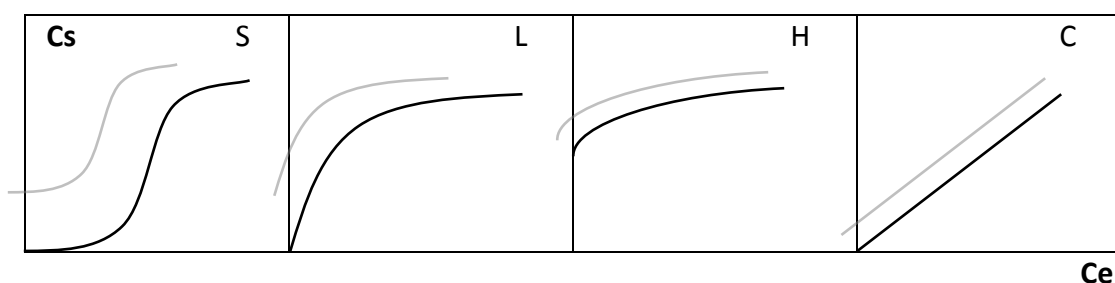


Figura I.2. Tipos de isotermas de adsorción según la clasificación de Giles et al., (1960) fruto de representar C_s en función de C_e .

Para representar numéricamente las isothermas de adsorción de compuestos orgánicos a suelos y sus componentes, las isothermas suelen ajustarse a ecuaciones matemáticas o modelos de adsorción. Entre ellas destaca la Ecuación de Freundlich, muy usada para el estudio de parámetros de adsorción en sistemas heterogéneos como suelos.

Ecuación de Freundlich:

$$C_s = K_f \cdot C_e^{N_f}$$

O, en su expresión logarítmica:

$$\text{Log } C_s = \text{Log } K_f + N_f \cdot \text{Log } C_e$$

Donde:

- C_s : Concentración de soluto adsorbido.
- C_e : Concentración de soluto en la disolución una vez alcanzado el equilibrio.
- K_f : Constante que coincide con la cantidad de soluto adsorbido cuando la concentración en la disolución de equilibrio es 1.
- N_f : Constante relacionada con la forma de la isoterma.

$$N_f = 1 \quad \text{Tipo C}$$

$$N_f < 1 \quad \text{Tipo L}$$

$$N_f > 1 \quad \text{Tipo S}$$

A menudo se supone que C_s depende linealmente de C_e , obteniéndose así el coeficiente de distribución o constante de equilibrio, K_d , que se define:

$$K_d = C_s / C_e$$

La ecuación anterior implica una relación directamente proporcional entre la concentración de adsorbato en el disolvente o fase líquida y la concentración en el sólido o fase sólida. Esta forma lineal generalmente describe correctamente el equilibrio a bajas concentraciones de adsorbato en la fase líquida. Sin embargo, es habitual encontrar casos en los que la relación entre la cantidad adsorbida y la cantidad en disolución no es lineal, por lo que el valor de K_d dependerá de la concentración a la que se trabaje.

También podemos calcular el coeficiente de histéresis ($H = N_f \text{ des} / N_f \text{ ads}$), a partir de las constantes N_f de la desorción y de la adsorción, que representa la irreversibilidad del proceso de adsorción (Barriuso et al., 1994). Valores de H cercanos a cero indican que no se produce desorción del compuesto. Valores cercanos a 1 representan un escenario en el que el compuesto se desorbe en su totalidad.

Factores que influyen en la adsorción-desorción.

Los principales factores que afectan a la adsorción de compuestos orgánicos al suelo, pueden dividirse en 4 grupos: los relativos al suelo, los que dependen del adsorbato, los relativos a la disolución del suelo y otros.

a) Relacionados con la composición coloidal del suelo.

Los componentes coloidales del suelo, entendidos como aquellos con un **tamaño de partícula inferior a 2 μm** , son por su elevada superficie específica y reactividad superficial los principales responsables de las interacciones que tienen lugar entre la fase sólida del suelo y compuestos como los plaguicidas. Los componentes coloidales pueden ser orgánicos o inorgánicos.

▪ La **fracción coloidal orgánica** se puede dividir en sustancias *no húmicas* y sustancias *húmicas*.

Las sustancias *no húmicas* están formadas por glúcidos, proteínas, lípidos, ácidos orgánicos y otros compuestos de bajo peso molecular procedentes de restos animales y vegetales. Son atacados y degradados fácilmente por microorganismos (Schnitzer y Khan, 1972), formando los constituyentes de las sustancias húmicas.

Las *sustancias húmicas* o *humus*, formadas a partir de las no húmicas por procesos de biodegradación y síntesis, son mucho más estables y se caracterizan por tener una estructura química compleja y amorfa, carácter ácido, color oscuro y elevado peso molecular (Aiken et al., 1985). Se considera que están formadas por un esqueleto fundamentalmente aromático, a base de heterociclos nitrogenados, quinonas, fenoles y ácidos benzoicos, con cadenas alifáticas laterales. Las sustancias húmicas presentan grupos funcionales muy numerosos y variados: carboxílicos, carbonilos, hidroxilos, tioles, aminos, sulfónicos, etc. Se distinguen tres grupos de sustancias húmicas atendiendo a sus solubilidades en distintos extractantes (Schnitzer y Khan, 1972):

- Ácidos húmicos: solubles en medio alcalino e insolubles en medio ácido.
- Ácidos fúlvicos: solubles en medio ácido y alcalino.
- Huminas: fracción insoluble a cualquier pH.

Estructuralmente, los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos son muy similares, diferenciándose sólo en el peso molecular y en el contenido en grupos funcionales. La carga de las sustancias húmicas es variable dependiendo del pH. Normalmente las sustancias húmicas tienen carga negativa debido a la disociación de los grupos funcionales de carácter ácido como los grupos carboxílicos y fenólicos, lo que les

confiere capacidad de intercambio catiónico (CIC). Sin embargo, en suelos muy ácidos pueden tener carga positiva, adsorbiendo en ese caso sustancias de carácter aniónico.

En medio acuoso, las sustancias húmicas adoptan una estructura esférica, resguardando en el interior las partes hidrófobas y presentando hacia el exterior las partes hidrófilas (Oades et al., 1989). Los compuestos orgánicos apolares interaccionan fundamentalmente con las regiones hidrofóbicas de la materia orgánica del suelo, de forma que la adsorción es menor al aumentar el contenido en grupos funcionales polares (Rutherford et al., 1992). Por el contrario, las regiones hidrofílicas contribuyen a la retención de solutos polares. La saturación en agua de la materia orgánica del suelo aumenta, por tanto, su compatibilidad con los solutos polares (Negre et al., 2001).

- La **fracción coloidal inorgánica** está compuesta fundamentalmente por *silicatos laminares* o *filosilicatos* y por *óxidos*, *hidróxidos* y *oxihidróxidos* de distintos metales, fundamentalmente de hierro y aluminio. Tradicionalmente, el término “arcilla” se ha usado para referirse al material inorgánico de tamaño inferior a 2 μm , mientras que “mineral de la arcilla” se ha usado para referirse a un tipo específico de minerales que se encuentran en la fracción del suelo de tamaño menor a 2 μm . Estas definiciones han sido objeto de diversas matizaciones (Guggenheim and Martin, 1995).

Los *silicatos laminares* están formados por diferentes láminas apiladas; cada una de estas láminas está compuesta a su vez por capas de unidades tetraédricas Si-O y unidades octaédricas Al-(O-OH) o Mg-(O-OH). Según se dispongan estas capas dentro de las láminas existen distintos tipos de filosilicatos:

Minerales tipo 1:1. Se condensan una capa tetraédrica con una octaédrica para constituir la lámina. Las láminas se unen mediante puentes de hidrógeno O-OH. Este tipo de mineral puede ser neutro o tener una pequeña carga negativa consecuencia de sustituciones isomórficas, que se producen al ser sustituido el Si^{4+} por un átomo de similar tamaño pero de carga menor, como el Al^{3+} o el Fe^{3+} . Dentro de este grupo podemos nombrar a las caolinitas y a las serpentinas.

Minerales tipo 2:1. La estructura básica está formada por una capa octaédrica entre dos capas tetraédricas. Las láminas se mantienen unidas por fuerzas de van der Waals entre átomos de oxígeno de capas adyacentes. En los minerales 2:1 son más frecuentes las sustituciones isomórficas, lo que origina una carga negativa permanente que se compensa con los llamados *cationes interlaminares*. Éstos proporcionan al filosilicato una de sus propiedades más importantes, su capacidad de intercambio catiónico (CIC), es decir, la posibilidad de sustituir los cationes que se encuentran compensando la carga negativa por otros presentes en la disolución del suelo. Dependiendo de donde se produzca la sustitución isomórfica (capa tetraédrica u octaédrica) y de los tipos de cationes interlaminares presentes, se originará una

especie mineral u otra. Dentro de este tipo, podemos distinguir los grupos de la pirofilita-talco, esmectitas, vermiculitas, illitas y micas. De todas ellas, las esmectitas son las que presentan mayor poder adsorbente de pesticidas, principalmente los polares catiónicos, dada su alta capacidad de intercambio catiónico y la gran accesibilidad de su espacio interlamilar (Cornejo et al., 2008).

Dentro de la fracción coloidal inorgánica están también los *óxidos metálicos*, importantes por su alta superficie específica y alta reactividad superficial. La carga superficial es variable y depende del pH, por lo que pueden fijar tanto cationes como aniones. A pHs habituales en suelos la carga superficial es positiva, tendiendo a fijar aniones.

La capacidad de adsorción de los óxidos puede verse atenuada por su unión a los filosilicatos y a las sustancias húmicas, pasando a tener una gran importancia en la adsorción la asociación entre los componentes individuales del suelo (Celis et al., 1999a,b).

Excepto en el caso de solutos muy polares o suelos con bajos contenidos en materia orgánica, se considera que los coloides orgánicos del suelo juegan un papel prioritario en los procesos de adsorción. Es frecuente obtener una correlación bastante alta y positiva entre la adsorción de compuestos orgánicos y el contenido en materia orgánica, lo cual, según Chiou et al. (1985), es una consecuencia de la alta afinidad de las moléculas de agua por las superficies minerales, que quedan por tanto excluidas para la adsorción de compuestos orgánicos. No obstante y en suelos con bajo contenido en materia orgánica, como es frecuente en nuestro país y en toda la cuenca del Mediterráneo, la fracción mineral adquiere una mayor relevancia sobre todo en cuando se trata de compuestos polares (Hermosín et al. 2000).

b) Relacionados con la naturaleza del adsorbato.

Un factor fundamental en la adsorción de los plaguicidas en el suelo es la propia naturaleza química de la molécula. Las características físico-químicas del plaguicida pueden revelar su comportamiento en la adsorción. Entre las características más relevantes destacan la estructura, carga y tamaño molecular, además de su solubilidad en agua. Con respecto a la estructura molecular, Gramatica y Di Guardo (2002) propusieron una aproximación que permite una rápida predeterminación y monitorización de la distribución medioambiental de los plaguicidas, conociendo únicamente la estructura molecular de los mismos.

Entre las características físico-químicas, destacamos:

Grupos funcionales: la presencia de determinados grupos funcionales puede aumentar la afinidad del contaminante por la superficie del suelo. También pueden jugar un papel importante los grupos funcionales que no intervienen directamente en

la interacción, ya que pueden influir en la polaridad, capacidad donadora o aceptora de electrones o impedir estéricamente la unión.

Carga molecular: en general, podemos decir que los contaminantes aniónicos son atraídos por superficies con carga positiva, como la de los óxidos metálicos, mientras que son repelidos por las cargas negativas de los filosilicatos y las sustancias húmicas. Esto provoca que los compuestos aniónicos, como pueden ser las moléculas con carácter ácido ionizadas, tengan una baja adsorción a suelos y, por tanto, una alta movilidad. Por el contrario, los contaminantes catiónicos son atraídos por las superficies con carga negativa. En el caso de las sustancias ionizables, que tendrán distinta carga dependiendo de su pK_a o pK_b y el pH de la disolución del suelo, la adsorción dependerá de estos parámetros.

Los compuestos no iónicos con una determinada polaridad o polarizables son fijados por interacciones dipolo-dipolo con los coloides del suelo. Los compuestos no iónicos de baja polaridad son atraídos por los componentes del suelo mediante interacciones hidrofóbicas.

Tamaño molecular: puede jugar un doble papel en las interacciones. Una molécula voluminosa puede favorecer la unión por un aumento de la superficie de contacto entre ambos. Por otro lado, dicha característica puede impedir su adsorción en los microporos.

Solubilidad en agua: el efecto de la solubilidad sobre la adsorción puede ser variable, e incluso contradictorio. El tamaño molecular del plaguicida y su solubilidad son propiedades muy relacionadas entre sí, influyendo ambas en la magnitud del proceso de adsorción. Así, un mayor tamaño molecular disminuye la solubilidad en agua, afectando a la adsorción de manera variable. Según Chiou y Kile (1994) existe una relación inversa entre la solubilidad en agua de un compuesto orgánico y su adsorción a la materia orgánica del suelo, pero esta relación variará considerablemente según la polaridad del compuesto. En el caso de que se considere la adsorción por los componentes minerales, se da la relación inversa; cuanto más polar y más soluble sea el plaguicida, más se adsorberá.

c) Relacionados con las características de la disolución del suelo.

El pH del suelo tiene una importancia especial en la adsorción de especies ionizables, ya que determina la carga superficial de los componentes con carga variable del suelo así como la forma que según su naturaleza química, presenta la molécula de plaguicida. La composición de la disolución del suelo influye en gran medida en la adsorción de iones orgánicos. También puede influir en la solubilidad del plaguicida (Clay et al., 1988), afectando por tanto indirectamente a la adsorción. La mayor adsorción de las bases orgánicas suele tener lugar en el rango de pH correspondiente al pK_a de las mismas (Thomsen et al., 1999).

La fuerza iónica de la disolución del suelo es un factor a tener en cuenta para moléculas iónicas, ya que al aumentar la fuerza iónica disminuye la adsorción por un fenómeno de competencia. Para moléculas neutras el comportamiento es variable y no existe una tendencia general.

d) Otros factores.

En este apartado consideraremos factores como la *temperatura*, la *humedad* o el *tiempo de residencia*. En general, al aumentar la temperatura disminuye la adsorción (por tratarse de un proceso exotérmico) y aumenta la desorción (fenómeno endotérmico). Por otro lado, generalmente la adsorción de compuestos orgánicos aumenta al disminuir la humedad del suelo, lo cual puede atribuirse a las interacciones hidrofóbicas que se producen entre éstos y las moléculas de agua (Calvet, 1989). En cuanto al tiempo de residencia, al aumentar el tiempo de contacto entre el contaminante orgánico y el suelo, pueden ocuparse sitios de adsorción de difícil acceso o elevada energía de activación (Cox et al., 1998).

I.1.2.2. Lixiviación.

La lixiviación es el transporte de un compuesto a lo largo del perfil del suelo debido a la influencia del agua de lluvia o riego. Este movimiento vertical incide tanto en la efectividad biológica del plaguicida como en la contaminación de aguas subterráneas. El riesgo de contaminación de acuíferos por lixiviación está determinado fundamentalmente por el balance entre la velocidad de transporte a través del suelo y su adsorción y degradación a lo largo del perfil del suelo. Cuanto mayor adsorción y degradación, menor riesgo de contaminación (Bowman, 1989). En cultivos de arroz bajo condiciones de inundación, la lixiviación es una de las principales causas de disipación de los plaguicidas aplicados (Sudo et al., 2012).

Los principales factores que afectan a la lixiviación de plaguicidas en suelos son: la adsorción por los coloides del suelo, las características físico-químicas del contaminante, las características del suelo y la intensidad y frecuencia del agua de lluvia o riego. A continuación estudiaremos detalladamente estos factores.

- **Adsorción por los coloides del suelo:** al aumentar la adsorción a los coloides del suelo, disminuye la movilidad y, por tanto, la lixiviación de ciertos plaguicidas (Cox et al., 2000a). La materia orgánica es el factor más relevante en la retención de sustancias no polares, pudiéndose estimar la adsorción en función del compuesto y el contenido en materia orgánica del suelo (Green y Karickhoff, 1990). Así por ejemplo, el índice GUS (Gustafson, 1989) se basa en el valor de K_{oc} y en el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de un compuesto para calcular la probabilidad de lixiviación de un compuesto.

$$\text{Índice GUS} = \log (t_{1/2}) \cdot [4 - \log (K_{oc})]$$

Valores del índice superiores a 2.8 indican un riesgo alto de lixiviación, mientras que valores inferiores a 1.8 indican riesgo bajo.

La mayoría de los contaminantes catiónicos tienen tendencia a ser fuertemente retenidos por los elementos del suelo por mecanismos como el intercambio catiónico y no suelen ser encontrados en altas concentraciones en aguas subterráneas. Por el contrario, los contaminantes aniónicos o con características ácidas, como los ácidos aromáticos, aunque tienen cierta tendencia a ser retenidos por algunos componentes del suelo (filosilicatos y óxidos metálicos), presentan una gran movilidad y pueden ser encontrados en altas concentraciones en aguas subterráneas (Tanji y Valoppi, 1989). Existe un caso especial que es el de *transporte facilitado*. A veces, la movilización de los coloides del suelo con plaguicida adsorbido a ellos puede originar un transporte facilitado que acelere el proceso de lixiviación. Este tipo de transporte cobra más importancia si las partículas coloidales en suspensión son muy abundantes, los compuestos son fuertemente adsorbidos a los coloides y en compuestos con baja solubilidad en agua (Cox et al., 2000b; Li et al., 2005).

- **Características físico-químicas del contaminante:** principalmente aquellas que determinan el grado de retención por los coloides del suelo, como la solubilidad en agua, la ionizabilidad, la presión de vapor e hidrofobicidad (Weber et al., 1980). Los compuestos catiónicos son, en general, poco móviles debido a los fuertes enlaces iónicos que forman con el complejo de cambio catiónico de los coloides. Los compuestos muy solubles en agua suelen tener una alta movilidad al ser débilmente adsorbidos. La movilidad de compuestos con carácter ácido/base depende de su pK_a y del pH del suelo, ya que va a determinar la relación entre la forma ionizada y la forma neutra del compuesto (Dubus et al., 2001). Las sustancias básicas, en general, tienen una baja movilidad; las ácidas, a pH habituales en suelos suelen tener una alta movilidad.
- **Características del suelo:** el contenido en materia orgánica, en óxidos metálicos, el pH o el contenido en arcillas son decisivos en la adsorción de los compuestos orgánicos al suelo y, por tanto, van a determinar su capacidad para lixiviar. Otra de las características más importantes del suelo que influye sobre la lixiviación es la presencia de *macroporos*. Éstos pueden dar lugar a un mecanismo de flujo preferencial. Por este mecanismo el soluto puede percolar a través del suelo de una manera rápida y sin apenas interaccionar con el suelo, permitiendo la llegada a aguas subterráneas de contaminantes poco solubles. A este tipo de transporte se le denomina *hidrodinámico*, y carece de procesos de difusión.

- **Aporte de agua:** la intensidad y frecuencia del agua, de lluvia o riego, va a tener una gran influencia en la lixiviación de plaguicidas. Las lluvias poco después de la aplicación de un plaguicida tienen una gran influencia en la cantidad de plaguicida lavado, ya que la retención aumenta progresivamente con el tiempo de residencia (Wauchope, 1978; Cox et al., 1998). En el caso de las prácticas tradicionales, el suelo de cultivo de arroz está la mayor parte del tiempo inundado. Dicha práctica influye sobremanera en el movimiento vertical de plaguicidas en el suelo.

I.1.2.3. Escorrentía.

El proceso de escorrentía o de precipitación en superficie tiene lugar cuando la tasa de precipitación o riego superan la tasa de infiltración de agua en el suelo. Según Wauchope (1978), las pérdidas de plaguicidas por escorrentía tienen lugar en disolución, para plaguicidas muy solubles en agua, o con el plaguicida adsorbido a los coloides del suelo para plaguicidas poco solubles.

En el caso del arroz, los cultivos se realizan en parcelas con pendiente prácticamente nula y el suelo se encuentra permanentemente inundado o a capacidad de campo. Por ello, la escorrentía y los fenómenos asociados de erosión y pérdida de suelo son poco acusados. Sin embargo, el sistema de riego empleado en Andalucía y otras regiones es el de inundación con circulación casi continua de agua a lo largo de todo el ciclo vegetativo, mediante una red de distribución y desagüe, que puede “facilitar” de forma considerable la pérdida de plaguicidas disueltos en el agua. La presencia de plaguicidas procedentes de cultivos en aguas superficiales es un hecho que se ha puesto de manifiesto en diversos estudios (Carabias-Martínez et al., 2003; Hildebrandt et al., 2008; Hermosín et al. 2013). Podemos destacar también la monitorización de plaguicidas polares y semi-polares llevada a cabo por Kuster et al., (2008) en el delta del río Ebro, donde las concentraciones más altas se registraron en el mes de Julio, durante la principal estación de crecimiento del cultivo de arroz.

I.1.2.4. Otros procesos de transporte.

- **Volatilización:** consiste en el paso del plaguicida a fase gaseosa, a través de la cual puede ser transportado a puntos muy alejados del lugar de aplicación. Este proceso afecta en mayor medida al plaguicida que permanece en la superficie del suelo o de las plantas, como sería el caso del triciclazol tras su fumigación, y en menor proporción al plaguicida disuelto en la disolución del suelo (Thomas, 1982). El paso de compuestos a la atmósfera está influenciado directamente por factores meteorológicos entre los que podemos destacar las precipitaciones, la temperatura, presión atmosférica, etc.
- **Difusión:** la difusión es el fenómeno por el cual un contaminante se desplaza de un punto a otro dentro de una misma fase en el suelo o agua. Según la ley de Fick, la densidad de corriente de partícula es proporcional al gradiente de

concentración. Los factores que más afectan a la difusión son la solubilidad y presión de vapor del contaminante, así como la temperatura, el contenido de humedad y la porosidad del suelo.

- **Absorción por plantas y organismos:** muchas sustancias son absorbidas por plantas, insectos, nematodos, etc., pudiendo degradarse o quedarse asociados a residuos de plantas y organismos.

I.1.2.5. Procesos de transformación o degradación.

La degradación es uno de los parámetros más relevantes en el destino de un plaguicida en el suelo y en las pérdidas por contaminación de aguas superficiales y subterráneas (Boesten, 1991; Dubus et al., 2002). La degradación de plaguicidas en suelos está influenciada por muchos factores temporal y espacialmente variables entre los que se incluyen la actividad microbiana, el contenido de carbono orgánico del suelo (COS) y de otros nutrientes, el pH, la salinidad, la temperatura del suelo, el contenido en oxígeno, la humedad y la biodisponibilidad de plaguicidas en función del grado de adsorción a la fase sólida del suelo (Aislabie and Lloydjones, 1995; Singh, 2001; Borggaard and Gimsing, 2008). Por tanto, la tasa de degradación de un pesticida suele ser altamente variable, más aún en condiciones naturales (Rodríguez-Cruz et al., 2006).

Los procesos de transformación o degradación que afectan a los plaguicidas en los suelos se pueden dividir, según su origen, en tres grandes grupos: procesos de degradación química, procesos de degradación microbiana (biodegradación) y procesos de fotodegradación. Estos procesos conducen a la desaparición del producto y originan otros compuestos que pueden ser de la misma, mayor o menor toxicidad que el original.

a) Degradación química.

Las reacciones de degradación química más frecuentes son las reacciones hidrolíticas y de sustitución y las reacciones redox. Pueden ocurrir tanto en disolución como catalizadas por la superficie de las partículas del suelo (Cornejo et al., 1983). Los factores más importantes que afectan a los procesos de degradación química son el pH, el potencial redox, la temperatura y la composición de la disolución y de la fracción coloidal del suelo. La adsorción del plaguicida a los coloides del suelo puede tener un doble efecto; unas veces puede servir de protección frente a la degradación y otras puede potenciar dichas reacciones, como medio catalizador. Los cationes de cambio de los minerales de la arcilla y el agua de hidratación participan en muchas reacciones de degradación catalizadas por la superficie (Russell et al., 1968; Laird et al. 1996).

b) Biodegradación.

La acción de los microorganismos del suelo sobre los compuestos orgánicos constituye probablemente el mecanismo de descomposición más importante. Los microorganismos del suelo, bacterias, algas y hongos, obtienen nutrientes y energía para su crecimiento por descomposición de dichos compuestos orgánicos, especialmente cuando carecen de otras fuentes preferentes. Si la degradación del compuesto es completa, hablamos entonces de **mineralización**, formándose NH_3 , CO_2 y H_2O . La tasa de biodegradación suele aumentar con la temperatura y con el aumento de la humedad del suelo hasta capacidad de campo (Parker y Doxtader, 1983; Allen y Walker, 1987). En este proceso pueden generarse subproductos, en muchos casos poco estudiados, cuya toxicidad puede ser igual, menor o incluso mayor que la de los compuestos de partida.

Una vez en el suelo, los plaguicidas pueden ser inmovilizados en mayor o menor medida por la fracción sólida del mismo. La inmovilización afecta a la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de dichos compuestos y, por tanto, a su biodegradación. Khan (1982) hizo una distinción dentro de los residuos vinculados a la fracción sólida del suelo, en función de su biodisponibilidad. En función de la naturaleza de la unión, un compuesto inmovilizado puede volver a la solución del suelo y ser mineralizado como resultado de cambios en las condiciones ambientales del suelo (Dec and Bollag, 1988; Miltner et al., 2012).

Podemos distinguir entre residuos *fácilmente extraíbles* de la fracción sólida del suelo y otros *fuertemente retenidos* (en inglés "*bound residues*"). La definición adoptada por la IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) para estos últimos compuestos, ha sido frecuentemente discutida y revisada. Según Fuhr et al. (1996), se trata de aquellos compuestos, tanto en suelos como en plantas y animales, que persisten en la matriz en su forma original o como metabolito(s) después de la extracción; siempre y cuando, el método empleado para la extracción no cambie significativamente la estructura del compuesto ni de la matriz. De este modo, los compuestos estarán más o menos biodisponibles y bioaccesibles para su degradación.

Otro término importante a discutir en el ámbito de la biodisponibilidad es el de "envejecimiento" (*ageing*, en inglés), el cual se refiere a un aumento del tiempo de contacto entre el plaguicida y el suelo, que puede favorecer una asociación cada vez más fuerte con la fracción sólida del suelo. Dicha asociación puede disminuir la biodisponibilidad y por tanto su degradación por los organismos del suelo. El "envejecimiento" puede incluir la formación de enlaces covalentes y/u otros procesos, como pueden ser la adsorción a las partículas del suelo por mecanismos pasivos (Burgos et al., 1996), la difusión a áreas remotas como pueden ser los microporos (Ball and Roberts, 1991; Beck et al., 1995), o bien, quedar retenidos en la materia orgánica del suelo (Brusseau et al., 1991; Fu et al., 1994). Algunos autores han centrado sus

estudios en este tipo de procesos, que de una u otra forma, ralentizan la adsorción-desorción de contaminantes a las partículas naturales del suelo (Pignatello and Xing, 1996).

También es interesante tener en cuenta la posibilidad de una aceleración en la tasa de biodegradación de plaguicidas, tras una aplicación repetida de un pesticida u otros de estructura química similar, debido a una adaptación de los microorganismos del suelo a degradar tales compuestos. Este fenómeno se conoce como degradación acelerada y se ha constatado en un gran número de plaguicidas (Racke, 1990; Wagner et al., 1996; Abdelhafid, 2000).

❖ **Cinética de biodegradación:**

La curva de biodegradación de un plaguicida nos proporciona información sobre la biodisponibilidad del mismo en unas condiciones dadas, la contaminación de aguas superficiales y subterráneas, la bioacumulación en la macrobiota, etc.

Habitualmente se considera que los herbicidas que son cometabolizados, es decir, no usados como sustrato de crecimiento, se degradan siguiendo una cinética de primer orden (exponencial), donde la velocidad de degradación es proporcional a la concentración. En realidad, la expresión cinética más exacta es la de pseudo-primer orden, donde la tasa de degradación depende tanto de la concentración de plaguicida como del número de microorganismos degradadores. Sin embargo, por las dificultades que entraña la identificación microbiana, suelen usarse constantes de primer orden o simplemente la vida media (Scow y Hutson, 1992).

Para aquellos plaguicidas que sí son empleados por los microorganismos como sustrato de crecimiento, es frecuente observar curvas sigmoidales de biodegradación. Así por ejemplo, podemos destacar el trabajo de Mandelbaum et al. (1995), donde se aisló y caracterizó un microorganismo (*Pseudomonas* sp. ADP) capaz de mineralizar el herbicida atrazina.

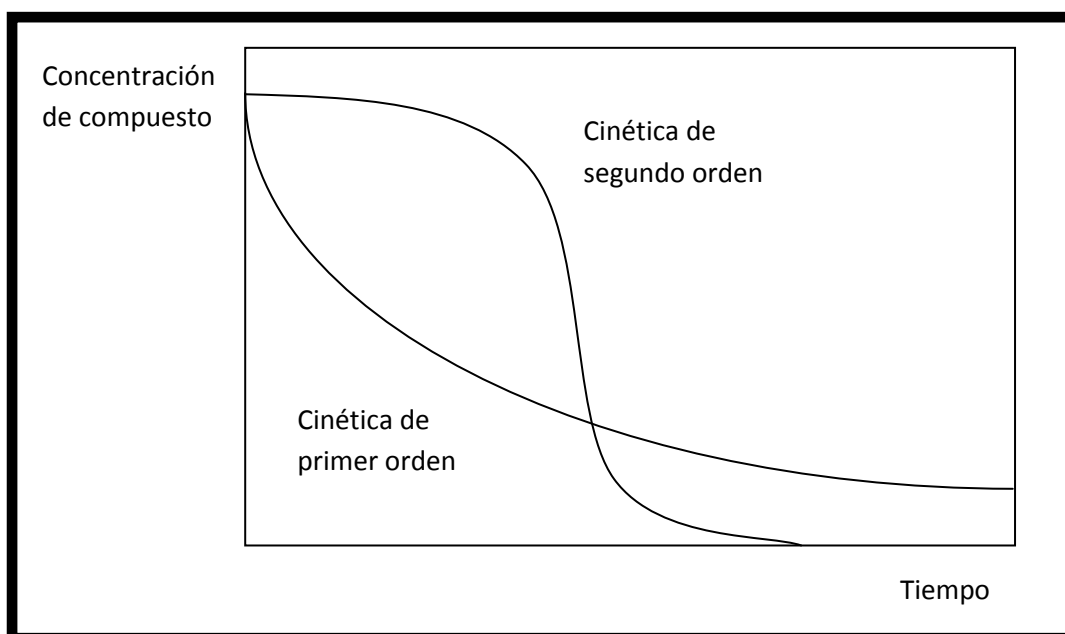


Figura I.3. Cinéticas de degradación de primer (exponencial) y segundo orden (sigmoideal).

c) Fotodegradación.

Consiste en la transformación inducida por la luz solar (Horspool, 1970), que puede tener lugar por reacciones de oxidación, reducción, hidrólisis, sustitución y/o isomerización. Esta reacción es importante en los primeros centímetros de suelo, en la superficie de plantas y en ecosistemas acuáticos a baja profundidad. A medida que el plaguicida penetra en el suelo, los procesos de fotodegradación son mucho menos frecuentes, ya que la radiación solar se atenúa hasta un 90% en los primeros centímetros de suelo. La fotodegradación puede ser directa, cuando el plaguicida se degrada por la acción directa de la radiación solar, o indirecta, cuando la energía de la radiación solar es absorbida por otros compuestos que luego la transmiten a la molécula de plaguicida o bien, dan lugar a especies reactivas intermedias que pueden entrar en reacción con el plaguicida (Mansour et al., 1989; Cox et al., 1996; Lányi y Dinya, 2003). Se ha comprobado que la fotólisis directa puede minimizar la concentración de diferentes compuestos en compartimentos ambientales accesibles a la luz solar, como pueden ser la superficie del agua (Packer JL et al., 2003) o del suelo (Zertal et al., 2005). Así por ejemplo, empleando potentes técnicas analíticas (como la espectrometría de masas de alta resolución) para la identificación de los subproductos de la fotólisis de la bentazona, Peschka et al. (2007) propusieron tres productos de foto transformación para dicho herbicida (Figura I.4.).

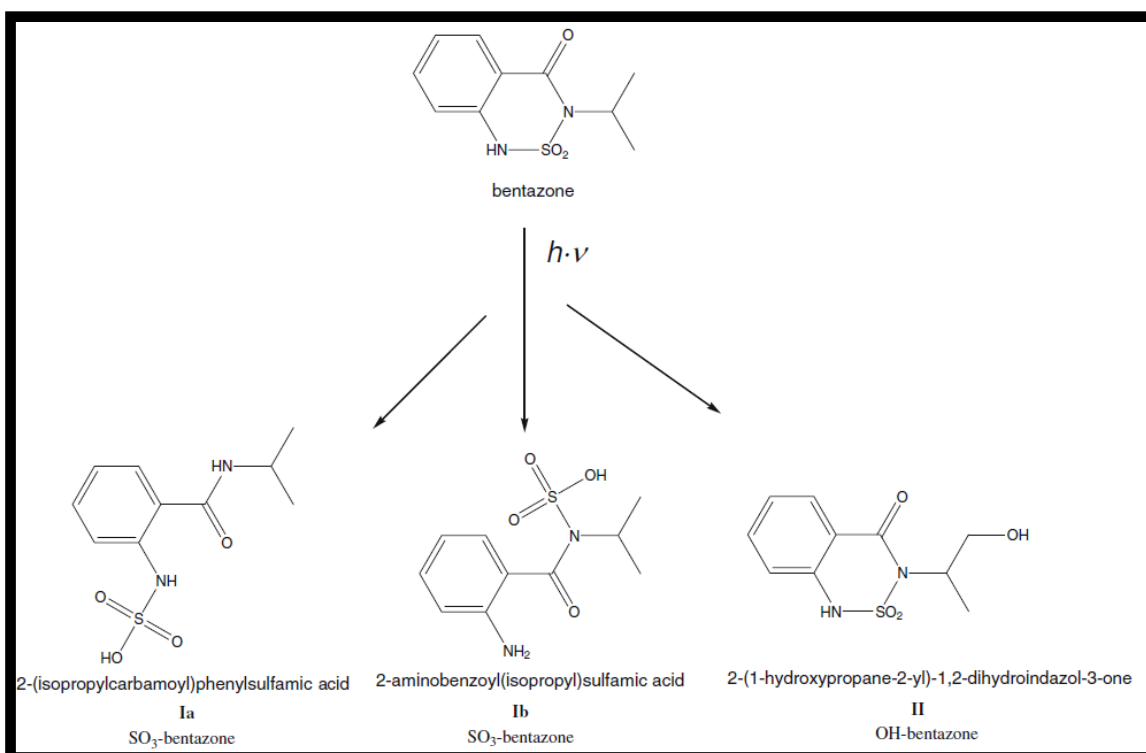


Figura I.4. Productos de foto transformación propuestos para el herbicida bentazona.

I.1.3. ESTRUCTURA Y POROSIDAD DEL SUELO.

I.1.3.1. Generalidades.

A la hora de estudiar las propiedades edáficas, no sólo es importante estudiar la textura, mineralogía o propiedades físico-químicas, sino que resulta de gran relevancia tener en cuenta el orden y estructura que mantienen los distintos componentes en el suelo. De ello dependerá que unas moléculas estén más o menos accesibles y de ese modo, que se produzca en mayor o menor medida su interacción con otros complejos orgánicos como pueden ser la materia orgánica de enmiendas o bien, compuestos xenobióticos como los plaguicidas. De ese modo, en función de cómo se organice el sistema de espacios vacíos o poros, de qué componentes estén formando parte de ese sistema y en qué proporción, junto con la disposición de dichos componentes en la estructura del suelo, podremos modelar el comportamiento de diferentes compuestos.

I.1.3.2. La estructura de los coloides organominerales.

La estructura porosa de los agregados del suelo constituye el medio en el que ocurren la mayor parte de los procesos físico-químicos del suelo. La estructura de poros determina la superficie expuesta por la fase sólida del suelo y, por tanto, condiciona los procesos de retención y transformación que tienen lugar cuando los

compuestos orgánicos interactúan con las partículas organominerales de la fracción coloidal del suelo (Celis et al., 1996).

Diferentes técnicas como la porosimetría de mercurio, la determinación de la superficie específica por adsorción de gases o el análisis de imágenes se usan de forma complementaria para caracterizar la estructura de los agregados del suelo.

Sin embargo, la complejidad de dicha estructura hace muy difícil tanto su descripción cuantitativa como relacionarla con los procesos físicos y químicos que dependen de ella. La aplicación de la geometría *fractal* (Mandelbrot, 1975 y 1982) al estudio de sistemas complejos como lo es la estructura de los agregados del suelo, ofreció la oportunidad de llevar a cabo una descripción cuantitativa y la posibilidad de relacionar la estructura con los procesos fisicoquímicos que tienen lugar en el suelo (Bartoli, 1991; Young y Crawford, 1991).

I.1.3.3. Porosidad de sólidos: adsorción física de gases y porosimetría de mercurio.

Las técnicas de adsorción de gases y la porosimetría de mercurio han sido usadas desde hace muchos años como métodos complementarios para la caracterización de la estructura porosa de los sólidos en el rango de micro- (radio de poro, $r_p < 1\text{nm}$), meso- ($1 < r_p < 25\text{ nm}$) y macroporos ($r_p > 25\text{ nm}$). La porosimetría de mercurio se considera generalmente como el mejor método existente para determinar la porosidad en el rango de macroporos y en el rango superior de mesoporos, mientras que el nitrógeno se considera el adsorbato más adecuado para evaluar la superficie específica y la porosidad de materiales micro- y mesoporosos a partir de la correspondiente isoterma de adsorción (Gregg y Sing, 1982).

La aplicación de las técnicas de adsorción de gases y porosimetría de mercurio, han puesto de manifiesto que la mayoría de los sólidos poseen un rango amplio y continuo de tamaños de poros. La geometría *fractal* surgió como una herramienta analítica, alternativa a los análisis clásicos, muy útil para la descripción de este tipo de estructuras porosas, heterogéneas y complejas, como son los agregados del suelo.

La dimensión fractal de la superficie de un sólido, D_s , puede obtenerse a partir de experiencias de adsorción de gases en las cuales la escala o “regla” viene dada por el área efectiva (α) ocupada por la molécula de gas adsorbida. Dependiendo de la molécula utilizada, α puede variar desde $0.1 - 0.2\text{ nm}^2$ para gases como N_2 , Kr ó Ar, hasta 1800 nm^2 para algunos polímeros (Avnir et al., 1984).

La información obtenida a partir de los experimentos de adsorción puede ser muy útil ya que está relacionada con el grosos y disposición de las partículas coloidales (Murray et al., 1985) y, en consecuencia, nos puede servir de gran ayuda para

comprender como tienen lugar los procesos de asociación de los diferentes constituyentes del suelo. En este sentido, la aplicación de la geometría fractal permite una descripción de la estructura microporosa de los agregados del suelo por un parámetro simple como es la dimensión fractal de la superficie (Celis et al., 1996).

I.1.3.4. Estudio de la Porosidad.

Como ha sido arriba mencionado, los tamaños de poro del suelo suelen dividirse en macro, meso y microporos. Los primeros son de notables dimensiones, y están generalmente llenos de aire. El agua los atraviesa rápidamente, impulsada por la fuerza de la gravedad. Los últimos, en cambio, están ocupados en gran parte por agua retenida por las fuerzas capilares.

Los terrenos arenosos son ricos en macroporos, permitiendo un rápido pasaje de agua, y con una muy baja capacidad de retenerla. Los suelos arcillosos, son ricos en microporos, y pueden manifestar una escasa aireación, y una elevada capacidad de retención de agua.

La porosidad puede ser expresada con la relación:

—

Donde:

- P = porosidad;
- V_e = volumen de espacios vacíos u ocupados por gases o líquidos;
- V = volumen total de la muestra, comprendiendo sólidos, líquidos y gases.

I.1.3.5. Cambios en la porosidad de suelos enmendados.

Se ha comprobado en diversos estudios que la adición de enmiendas orgánicas, como es el caso del compost de alperujo, influye sobre las propiedades físico-químicas de los suelos. En general los cambios observados dependen tanto de la enmienda aplicada como del tipo de suelo, siendo los elementos más relevantes tanto la MOS, como la naturaleza de los componentes coloidales con los que pueda interaccionar y el aporte de agua que se produzca (en cantidad y frecuencia).

Así por ejemplo Cox et al. (1997a) estudiaron los efectos de la enmienda de suelos con un residuo orgánico procedente de la producción de aceite de oliva (alpechín) sobre dos herbicidas. Se observó una reducción del volumen de los poros de mayor tamaño, así como un aumento de los poros de tamaños más pequeños. Albarrán et al., (2003) comprobaron que la adición de una enmienda orgánica como el alperujo, provocaba un aumento en el volumen de poros con un radio aproximado de 10 μm . Dicho aumento no conllevó una mayor lixiviación de simazina a través de las columnas de suelo empaquetadas, posiblemente debido al aumento en el contenido en materia orgánica procedente de la enmienda. En un estudio llevado a cabo por Fernandes et al. (2006) también se observó que la adición de *alperujo* al suelo provocaba un aumento general de la porosidad debido a un aumento del volumen de poros de mayor rango estudiado (10-100 μm). Dicho aumento se atribuyó a una menor interacción con las partículas de suelo que con otros tipos de enmienda, originando con ello poros de mayor tamaño. Lozano-García et al. (2011) comprobaron que tras tres años de ensayo, los suelos enmendados mejoraron significativamente respecto al control en propiedades físico-químicas como el contenido en materia orgánica, la densidad del conjunto del suelo y la porosidad. Estos autores también comprobaron que dicha mejora en las propiedades del suelo conllevaba una mejora de la lixiviación general y una disminución de pérdidas por escorrentía.

I.1.4. LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO.

I.1.4.1. La fracción orgánica.

La fracción orgánica del suelo está compuesta por organismos vivos y sus restos en mayor o menor grado de descomposición. La materia orgánica es el término reservado para los componentes no vivos de la fracción orgánica del suelo, cuya procedencia puede estar en:

- Restos de origen animal.
- Resto de origen vegetal:
 - Hojas, ramas, raíces y residuos vegetales
 - Restos de microorganismos, bacterias y hongos
- Materia orgánica aportada por el hombre en forma de enmiendas orgánicas o compost.

Se trata pues de una mezcla heterogénea, compuesta de un gran número de productos resultantes de las transformaciones químicas y microbianas de desechos orgánicos. Esta transformación, conocida en su conjunto como “proceso de humificación”, origina el humus. El grado de transformación de la materia orgánica nos permite hacer distinción entre dos grupos mayoritarios: I) material prácticamente inalterado, que incluye desechos frescos y componentes poco transformados de desechos más antiguos. II) productos transformados, o **humus**, de estructura muy diferente a aquella de la que proceden. Dicho humus constituye la **fracción coloidal orgánica** de la que ya hablamos al tratar los factores que afectan en el proceso de adsorción-desorción.

El patrón de distribución varía de forma espacial: de suelo en suelo y con la profundidad en el perfil del suelo (Zsolnay y Steindl, 1991; Zech et al., 1994; Kalbitz et al., 2000); y temporal (Zsolnay, 2003). A su vez, el contenido en materia orgánica del suelo es diferente según el grado de alteración por la actividad humana (laboreo, abonado, riego y tratamientos), el tipo de cultivo, el grado de mecanización, etc.

El continuo laboreo origina un aumento de la mineralización de la materia orgánica y cantidades más o menos grandes son sustraídas del ciclo natural del carbono en forma de cosecha útil para el hombre (Gallardo Lancho, 1982).

En la siguiente tabla se recogen los principales componentes del material del que procede la materia orgánica del suelo (**Tabla I.4.**):

COMPONENTES QUÍMICOS DEL MATERIAL ORIGINARIO DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO	
Hidratos de carbono	monosacáridos: pentosas y hexosas oligosacáridos: sacarosa, maltosa polisacáridos: Arabanas, poliurónidos, ...
Lignina	polímeros derivados del fenilpropano
Taninos	complejos fenólicos
Glucósidos	compuestos glucosa + alcohol, fenol o aldehídos
Ácidos orgánicos, sales y ésteres	ácidos oxálico, cítrico, málico, etc.
Lípidos y afines	grasas y aceites: ésteres glicéridos ceras: ésteres no glicéridos aceites esenciales: derivados del terpeno
Resinas	ácidos resínicos
Compuestos nitrogenados	proteínas, aminoácidos, aminas y bases orgánicas, alcaloides purinas, pirimidinas, ácidos nucleicos
Pigmentos	clorofilas carotenoides antocianinas
Compuestos minerales	Aniones y cationes

Los principales compartimentos y flujos de la materia orgánica en el suelo pueden resumirse con el siguiente esquema:

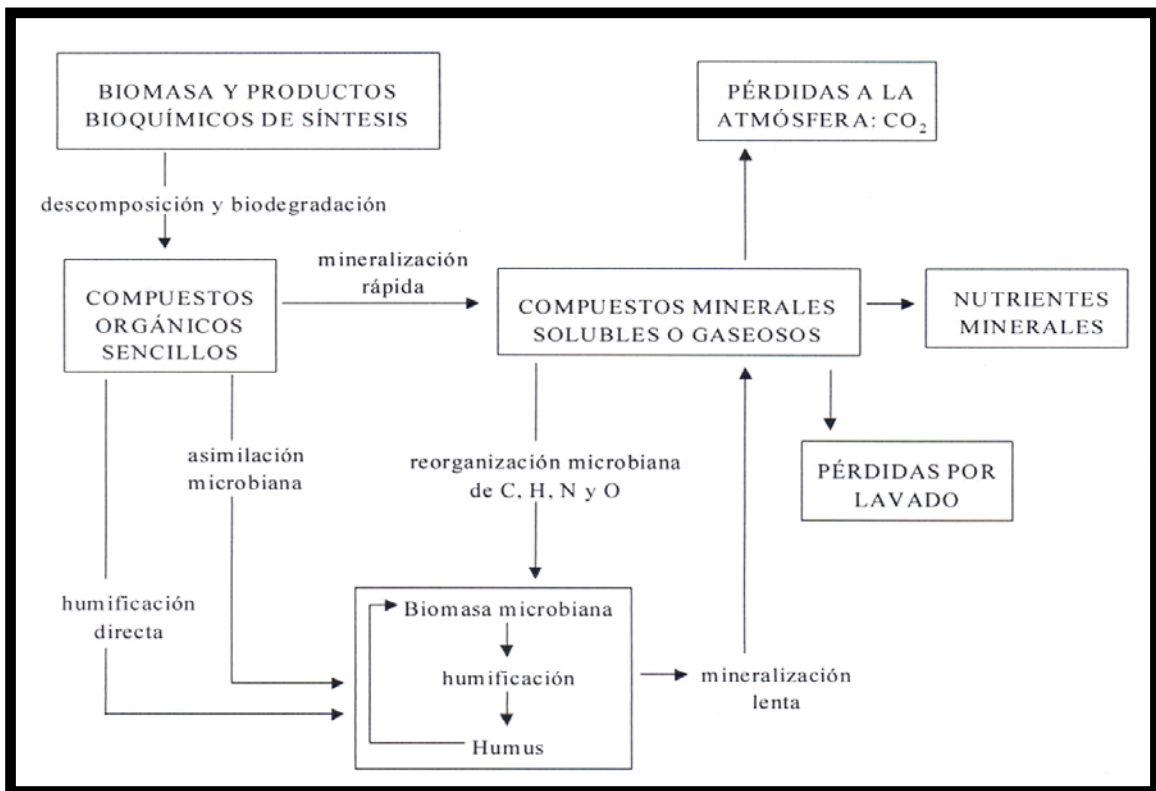


Figura I.5. Dinámica de la materia orgánica en el suelo.

Las características del humus dependerán fundamentalmente de:

- Naturaleza de los materiales precursores (MP)
- Naturaleza de los agentes biológicos (AB)
- Naturaleza del suelo, particularmente de la roca madre (NS)
- Agentes climáticos (AC)
- Duración del proceso de humificación (H)

De ese modo:

$$H = \int (MP, AB, NS, AC, H)$$

Los principales factores del suelo que influyen sobre dicha dinámica, son: la temperatura, la humedad, la topografía, el pH, la textura y el contenido en calcio.

I.1.4.2. Materia orgánica soluble (MOS). Concepto y clasificaciones.

La materia orgánica soluble (MOS) o disuelta es considerada también como la fracción soluble del humus (Zsolnay, 1996). Se trata de la fracción orgánica más móvil del suelo. Una mezcla compleja de material húmico y otras moléculas orgánicas más pequeñas como aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos y azúcares (Herbert y Bertsch, 1995). Operacionalmente, podemos definir la MOS como un conjunto de moléculas orgánicas de diferentes estructuras y tamaños, capaces de atravesar un filtro de 0.45 μm de poro (Thurman, 1985; Kalbitz et al., 2000).

Se ha comprobado que en sistemas en los que la matriz se encuentra saturada, como es el caso de los sedimentos marinos o los arrozales, objeto éste de nuestro estudio, el destino ecológico y la disponibilidad de la MOS suele estar fuertemente condicionada por su localización en los diferentes tamaños de poro (Zsolnay, 2003). De esta forma, Zsolnay (1996), propuso tres grandes grupos:

MOS-I: materia orgánica localizada en los microporos del suelo. Accesible sólo por procesos de difusión. No suele ser degradada ni por procesos abióticos ni por los microorganismos del suelo. Esta MOS tampoco está accesible para las plantas. De forma general, puede decirse que en suelos agrícolas, donde el 30% del agua se encuentra en los poros menores que 0.2 μm , asumiendo que la MOS está uniformemente distribuida, aproximadamente el 30% de la MOS es de tipo I. Para extraerla es necesario ejercer una alta presión, por lo que no se encuentra en los extractos. Sería por tanto, la MOS potencialmente disponible.

MOS-III: materia orgánica soluble de los macroporos. Principalmente transportada por procesos de convección. Su destino depende en gran medida del estado hidrológico del suelo. Está totalmente expuesta a todos los mecanismos de degradación biótica y abiótica. Sería la fracción móvil y disponible. Teóricamente, un 20% de la MOS es de tipo III.

MOS-II: es la materia orgánica localizada en los mesoporos y tiene atributos entre la MOS-I y la MOS-III. Se encuentra disponible *in situ*, pero no es móvil.

Según Zsolnay, el término **MOS**, debería reservarse para la materia orgánica soluble que está realmente disuelta *in situ*. De ese modo, surgen otros términos tales como **MOM** (materia orgánica móvil), **MOEA** (materia orgánica extraíble con agua), **MOEAC** (materia orgánica extraíble con agua caliente), etc. (Zsolnay, 2003).

Existen otras muchas clasificaciones basadas en los componentes estructurales del suelo, tal y como se recogen en la revisión llevada a cabo por Bolan et al. (2011) sobre biogeoquímica, dinámica y significado ambiental de la MOS en suelos. De ese modo, los constituyentes de la MOS pueden ser agrupados entre las categorías de

“lábil” y “recalcitrante” (Marschner and Kalbitz, 2003). La MOS es separada en fracciones en base a su solubilidad, peso molecular y adsorción cromatográfica.

I.1.4.3. Obtención de la MOS para su estudio.

El estudio de la MOS puede ser abordado básicamente desde dos puntos diferentes. El primero de ellos consistiría en el estudio de la MOS en su estado natural. El segundo sería aquel que trata de aislar la MOS de los componentes minerales del suelo, para poder así fraccionarla y separar los distintos componentes, para poder estudiarlos de forma individual (Hayes, 2006).

La combinación de diferentes solventes, tanto acuosos como orgánicos, es la mejor solución a la hora de estudiar la materia orgánica soluble (Hayes, 2006). Entre los disolventes orgánicos más utilizados para extraer la MOS del suelo, se encuentran la formamida y la *N*-metilformamida. También pueden usarse solventes dipolares apróticos como el *N,N*-metilformamida (DMF) y especialmente el dimetilsulfóxido (DMSO). Entre los extractantes acuosos más utilizados se encuentra el agua. (Bertsch, 1993).

Las características de la disolución (incluyendo el pH, la fuerza iónica y el anión dominante), así como las condiciones en que se realice la extracción (duración, temperatura), determinarán el tipo y la cantidad de materia orgánica extraída (Reemtsma et al., 1999).

Debido a la dificultad para determinar experimentalmente la verdadera MOS en muestras de campo, suele estudiarse en su defecto la materia orgánica total o carbono orgánico total extraíble en agua (Zsolnay y Görlitz, 1994) o solución 0.01 M de cloruro cálcico.

Antes de ser cuantificada y caracterizada, la MOS debe ser separada del material no soluble. Para ello pueden emplearse técnicas de filtración o centrifugación. La centrifugación tiene la ventaja de evitar posibles adsorciones al filtro. El tamaño de poro utilizado para la filtración es de 0.45 μm . La MOS es cuantificada según la cantidad de carbono que contiene. Por ello, se entienden la MOS y el carbono orgánico soluble (COS) como una misma entidad.

I.1.4.4. Cuantificación y caracterización de la MOS.

En la caracterización de la MOS se utilizan diversos métodos analíticos, como la espectroscopía de infrarrojo aplicando transformada de Fourier (González-Vila et al., 1999; Chen et al., 2002), la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (Chefetz et al., 1998; Chen et al., 2002; Dai et al., 2002), la espectroscopía de resonancia de spin

electrónico (Bayer et al., 2002; Chen et al., 2002), la espectroscopía de UV-visible (Kumada, 1987; Traina et al., 1990; Chen et al., 2002) y la espectroscopía de fluorescencia (Senesi et al., 1991; Spark y Swift, 1994; Ohno, 2002; Chen et al., 2003). El contenido en carbono suele cuantificarse por el método del dicromato en húmedo o por oxidación catalítica seguida de titulación o medición por absorción en infrarrojo del dióxido de carbono liberado. En el proceso de oxidación suelen emplearse la luz UV y/o altas temperaturas. Frecuentemente, la concentración de COS en las muestras es proporcional a la capacidad que tienen de absorber luz UV (Branstetter et al., 1996; Schwarz et al., 2002) o de fluorescencia (Lombardi y Jardim, 1999).

I.1.5. ENMIENDAS ORGÁNICAS.

I.1.5.1. Tipos de enmiendas orgánicas.

Los primeros estudios sobre el efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas al comportamiento de plaguicidas se remontan a finales de los años 80 (Azam et al., 1988). Las enmiendas orgánicas aplicadas al suelo pueden ser muy variadas. Entre aquellas que afectan al comportamiento de plaguicidas en suelo, se encuentran: lodos de depuradora (Celis et al., 1998), compost de residuos sólidos urbanos (Cox et al., 2001), restos de paja (Houot et al., 1998), residuos de la industria vinícola (Andrades et al., 2004), bioproductos de la fermentación de maíz, serrín, compost de residuos de jardines, abono de ganado (Moorman et al., 2001), turba (Si et al., 2006), residuos líquidos de almazara (Cox et al., 1997; Fernandes et al., 2006). Más recientemente se han publicado trabajos sobre el uso de residuos sólidos de almazara (alperujo) utilizados como enmiendas orgánicas en suelos (Albarrán et al., 2004; Delgado-Moreno y Peña, 2007a y 2007b; Cabrera et al., 2009). Últimamente ha adquirido un enorme interés el estudio de diferentes tipos de carbón biológico (biochar), obtenido a partir de la carbonización de la biomasa mediante pirolisis (Lehmann y Joseph, 2006; Cabrera et al., 2011), a pesar de que su empleo en suelos ha sido llevado a cabo, como el de otras enmiendas orgánicas, desde muy antiguo.

I.1.5.2. Alperujo y compost de alperujo.

Recientemente ha aumentado el interés en el uso de residuos sólidos procedentes de almazara, como es el alperujo, para la enmienda de suelos. España es el mayor productor del mundo de aceite de oliva, con una producción de 1.100.000 toneladas por año durante el período 2001-2007 (International Olive Council, 2008). Dicha producción genera enormes cantidades de restos orgánicos.

La nueva tecnología de extracción de aceite de oliva consiste en un proceso de 2 fases que genera una parte líquida (aceite de oliva) y una parte residual sólida,

conocida como alperujo (Alburquerque et al., 2004 y 2009). Mediante este sistema, se generan aproximadamente 4.000.000 de toneladas al año de este residuo en períodos muy cortos de tiempo, con lo que su eliminación se traduce en un problema técnico, financiero y medioambiental (Rodríguez-Lucena et al., 2010).

El alperujo es un residuo muy húmedo, altamente rico en materia orgánica, potasio, nitrógeno, carbonatos solubles, fenoles y grasas (Alburquerque et al., 2004). Estas propiedades le permiten mejorar la estructura del suelo, incrementar el contenido en materia orgánica, enriquecer la población microbiana y, dependiendo del caso, disminuir las pérdidas de plaguicida por lixiviación y escorrentía. A su vez, presenta otras ventajas frente a otros tipos de residuos, como es su bajo contenido en metales pesados y patógenos. Teniendo todo esto en cuenta, el alperujo se presenta como una opción excelente para la enmienda de suelos en Andalucía.

Para evitar los posibles efectos fitotóxicos ocasionados por este residuo orgánico suele llevarse a cabo su compostaje de forma previa a la aplicación al suelo. Alburquerque et al. (2006) comprobaron que el compostaje del alperujo producía un incremento en su pH, así como una disminución del ratio C/N, y del contenido en carbono orgánico soluble y ácidos fenólicos (responsables de los posibles efectos fitotóxicos). A su vez, determinaron que el compost de alperujo obtenido presentaba un elevado contenido en potasio y nitrógeno orgánico.

I.1.5.3. Interacción de la MOS del suelo con la de las enmiendas orgánicas.

Se ha comprobado que el origen de la materia orgánica del suelo condiciona fuertemente el grado de adsorción de la materia orgánica soluble que entra *de novo* en el sistema. Así por ejemplo, Kaiser et al. (2000) comprobaron que en función del grado de humificación aumentaba o disminuía la adsorción de la materia orgánica soluble procedente de restos forestales. De ese modo, suelos cuya materia orgánica posee un alto contenido en carbonos aromáticos, presentan mayor capacidad de adsorción (Shen et al., 1999). Esto puede ser debido a interacciones hidrofóbicas entre los compuestos aromáticos y la MOS.

Kaiser y Zech (1998), demostraron una disminución en la adsorción del carbono orgánico soluble en suelos con un contenido creciente de carbono orgánico disuelto debido al aporte de enmiendas. A su vez, se ha observado una fuerte competencia por los sitios de unión entre las distintas fracciones de la materia orgánica disuelta caracterizadas, tanto en suelos (Kaiser y Zech, 1997) como en materiales presentes en agua de mar (McCarthy et al., 1996). Dicha competencia también implica un intercambio entre la MOS y la materia orgánica unida a la fracción mineral de la matriz del suelo.

De forma general, puede asumirse que la interacción entre la materia orgánica presente en el suelo y la MOS que se aporte al mismo, en forma de compost, biochar, o de cualquier otro tipo de enmienda orgánica que se emplee, va a depender de su estructura química y, por tanto, del origen de la misma.

I.1.5.4. Influencia en la dinámica de plaguicidas.

Existe un interés creciente en conocer la dinámica de las diferentes fracciones de la materia orgánica, ya sea endógena o exógena (procedente de alguna enmienda orgánica), por su interacción con los compuestos de síntesis aplicados al suelo. La adición de enmiendas orgánicas es una práctica recomendada en los suelos agrícolas para mejorar tanto sus propiedades físico-químicas como biológicas. Esta práctica es especialmente importante en la región andaluza que, por lo general, presenta suelos pobres en materia orgánica. Esta característica favorece considerablemente las pérdidas de plaguicidas por escorrentía o lixiviación. En los últimos años, se ha puesto de manifiesto el hecho de que incorporar enmiendas orgánicas al suelo es una forma eficaz de evitar dichas pérdidas. Un alto contenido en materia orgánica en suelos puede favorecer la retención de plaguicidas debido a un aumento en la adsorción. Este incremento en la adsorción puede disminuir la degradación de plaguicidas, aumentando así su persistencia y con ello su eficacia sobre el cultivo.

Los efectos de la adición de enmiendas orgánicas sobre la adsorción y, por tanto, sobre la lixiviación de plaguicidas no sólo dependen de la naturaleza de la enmienda orgánica y del pesticida, sino que también dependen en gran medida del tipo de suelo sobre el cual se apliquen (Senesi et al., 1992; Cox et al., 2000b). El uso de enmiendas orgánicas no siempre garantiza una disminución en la lixiviación de plaguicidas, especialmente si se trata de compuestos muy solubles en agua (Worral et al., 1999).

Barriuso et al. (1992) estudiaron el efecto de MOS procedente de diferentes tipos de enmiendas orgánicas sobre la adsorción y desorción de dimefurón, atrazina y carbetamida. De forma general, la adsorción de los herbicidas menos solubles (dimefurón y atrazina) se vio favorecida cuando el suelo se trató previamente con MOS exógena, extraída previamente de algún residuo orgánico. El efecto opuesto se observó con el herbicida más soluble (carbetamida). En cuanto a la adición al suelo de enmiendas con un alto contenido en materia orgánica soluble, Celis et al. (1998) observaron que se producía una disminución en la adsorción de atrazina, atribuyéndose a un fenómeno de competencia por los sitios de adsorción en la superficie del suelo entre moléculas de pequeño peso molecular procedentes de la MOS y las moléculas de atrazina. Fernandes et al. (2006) también observaron que la adsorción del fungicida metalaxil no aumentaba en suelos enmendados con alperujo respecto a suelos sin enmendar, y lo atribuyeron a que las moléculas de bajo peso

molecular y no humificadas de la fracción soluble del alperujo, se adsorbían a los componentes minerales de la fracción arcilla del suelo, y competían con el fungicida por los sitios de unión. Esto se tradujo en una mayor lixiviación del compuesto en columnas empaquetadas manualmente. Resultados similares fueron observados por Cox et al. (2007) para la adsorción del herbicida diurón en un suelo arcilloso enmendado con alperujo.

También se ha considerado la aplicación de enmiendas orgánicas para conseguir aumentar la biodegradación de herbicidas en suelos contaminados. Moorman et al. (2001) estudiaron el efecto de una serie de enmiendas sobre la mineralización de herbicidas y se observó un aumento en la mineralización de atrazina con enmiendas de turba, tallos de maíz y estiércol.

I.1.6. BIOCHARS Y SU EMPLEO EN EL MANEJO AMBIENTAL.

I.1.6.1. Origen y evolución en su estudio y aplicación.

Aunque la investigación y desarrollo de biochars para el manejo ambiental a escala global es algo relativamente reciente, ha sido objeto de estudio desde hace tiempo en algunas regiones. De acuerdo con Ogawa, el biochar fue ya descrito por Miyazaki como el “abono del fuego” en un antiguo texto japonés de 1697. Datos sobre los efectos beneficiosos del biochar en la germinación (Retan, 1915) y en la química del suelo (Tryon, 1948), conforman algunas de las primeras investigaciones científicas sobre esta materia. En Japón, la investigación sobre biochars se vio muy intensificada a principios de la década de los 80 (Kishimoto and Sugiura, 1980, 1985). La aplicación de biochar ha sido recomendada en diversos contextos. Por ejemplo, en 1927, Morley comentó en el primer número de *“The National Greenkeeper”* que el biochar actúa como una esponja en el suelo, absorbiendo y reteniendo agua, gases y otros compuestos en solución.

A pesar de las tempranas descripciones e investigaciones sobre biochar, el interés global en su estudio y aplicación ha comenzado tan sólo en los últimos años. Este reciente interés tiene un origen doble. En primer lugar, el descubrimiento de que materias tipo biochar explican las elevadas cantidades de carbono orgánico (Glaser et al., 2001) y la prolongada fertilidad encontradas en ciertas regiones de la Amazonía, conocidas como Terra Preta de Indio (Lehmann et al., 2003a). Por otro lado, en la última década han salido a la luz numerosas pruebas sobre la inigualable estabilidad del biochar frente a otros tipos de enmiendas orgánicas, así como el importante aporte de nutrientes al suelo que supone su aplicación (Lehmann et al., 2009), mejorando sus propiedades más allá que cualquier otro tipo de enmienda orgánica. Dicha capacidad está basada en sus propiedades físicas y químicas, como son su alta densidad de carga (Liang et al., 2006), que resulta en una mayor retención de nutrientes (Lehmann et al.,

2003b) y su naturaleza particulada (Skjemstad et al., 1996), en combinación con su específica naturaleza química (Baldock and Smernik, 2002), lo cual le proporcionan una mayor resistencia frente a la degradación microbiana que la de otras fuentes de materia orgánica del suelo (Cheng et al., 2008).

I.1.6.2. Principales aplicaciones y ventajas derivadas de su producción y aplicación.

- **Enmienda de suelos.**

Mejorar las propiedades del suelo es una imponente necesidad en muchas regiones de nuestro planeta. Tanto en países industrializados como en aquellos en vías de desarrollo, la pérdida y degradación de suelos acontece a un ritmo sin precedentes (Stocking, 2003), con profundas consecuencias sobre las propiedades de los ecosistemas (Matson et al., 1997). Diversos estudios apuntan al biochar como una forma sostenible de conseguir y mantener niveles apropiados de materia orgánica en suelos (Steiner et al., 2007; Kimetu et al., 2008). La producción y aplicación de biochar se presenta como una oportunidad inmejorable para mejorar la fertilidad del suelo y hacer un uso eficiente de los nutrientes de manera sostenible, a partir de recursos disponibles localmente y de materias renovables.

- **Reciclado de residuos.**

La producción y aplicación de biochars nos ofrece la posibilidad de reconsiderar el manejo de algunos de los principales residuos agrícolas de nuestra región, como son el alperujo (procedente de la industria oleícola), los restos de las podas del olivar, la cascarilla del arroz y los restos de paja de diferentes cultivos. En el proceso de pirolisis, además, se consigue reducir significativamente el volumen y peso de los residuos, lo cual es un aspecto importante sobre todo en el manejo de residuos procedentes del ganado (Cantrell et al., 2007). En ocasiones, muchos de esos residuos o subproductos orgánicos ofrecen una buena oportunidad de negocio, generados a partir de una fuente fiable de materias primas procedentes de localidades cercanas. (Matteson and Jenkins, 2007). Adicionalmente, el proceso de pirolisis, que suele llevarse a cabo a temperaturas superiores a los 350°C, limita mucho la presencia de patógenos en el biochar, facilitando de ese modo su aplicación directa a suelos.

- **Producción de energía.**

Capturar la energía producida durante la producción de biochar y, al mismo tiempo, usar el biochar generado como enmienda orgánica para suelos, es una práctica altamente sostenible. La aplicación de biochars al suelo, en vez de usar toda esa materia orgánica como combustible, reduce en realidad la eficiencia de la producción bioenergética; sin embargo, la reducción de emisiones asociada a su aplicación al suelo parece compensar su uso como combustible (Gaunt and Lehmann, 2008). Se trata de

una solución efectiva, que ofrece solución a problemáticas ambientales más allá de la mera producción energética. Esta visión de la bioenergía, en general, y de la pirolisis, en particular, puede contribuir significativamente a asegurar un aporte futuro de energía verde. En aquellas regiones que dependen de la generación de energía a partir de biomasa, como es el caso de la mayoría de las áreas rurales de África, así como de una gran parte de Asia y Latino América, la generación de bioenergía a partir de la pirolisis proporciona una opción para la producción energética mucho más eficiente que la quema de biomasa (Demirbas, 2004).

- **Mitigar el cambio climático.**

La adición de biochar al suelo ha sido descrita como una medida para el secuestro de carbono con el objetivo de reducir la concentración de CO₂ atmosférico (Lehmann et al., 2006). Dicho secuestro de carbono se produce si las plantas cultivadas en dicho suelo crecen al mismo ritmo al de producción de biochar, ya que el paso de CO₂ atmosférico a C orgánico se produce gracias a la fotosíntesis. La producción de biochar, el cual se descompone a un ritmo mucho más lento que el de la propia biomasa, desvía una gran parte del C orgánico del rápido ciclo biológico a un ciclo mucho más lento, el ciclo de descomposición del biochar (Lehmann et al., 2007a). A su vez diversos estudios han corroborado que la adición de biochar al suelo reduce significativamente la emisión de otros gases de efecto invernadero, como el CH₄ (Liu et al., 2011).

- **Efectos sobre la actividad microbiana de las comunidades del suelo.**

La presencia de biochar en el suelo favorece la adsorción de carbono orgánico soluble, de nutrientes inorgánicos y de varios gases, así como de compuestos potencialmente tóxicos, como los plaguicidas, metales pesados y metabolitos tóxicos secundarios, que pueden influir en la abundancia, diversidad y actividad de los organismos del suelo. Así por ejemplo, Wardle et al (1998) estudiaron los efectos a corto plazo de la adición de biochar sobre el crecimiento de plantas y la biomasa microbiana, observando un incremento de los mismos en los suelos con aplicación de biochar.

- **Efecto sobre la disipación y transporte de contaminantes.**

Otra importante propiedad del biochar, que lo diferencia de otras enmiendas orgánicas, es su alta capacidad para adsorber compuestos orgánicos. En la última década ha crecido la preocupación general sobre el papel de los chars naturales, presentes de forma natural en el ambiente (Schmidt and Noack, 2000), en el control del destino y comportamiento de contaminantes orgánicos (Cornelissen et al., 2005; Koelmans et al., 2006). La adsorción de materia orgánica es el proceso clave en el control de la toxicidad, transporte, destino y comportamiento de compuestos orgánicos no polares en suelos (Beesley et al., 2010; Sun et al., 2012a). Entre este tipo

de compuestos se incluyen hidrocarburos poliaromáticos, bifenilos policlorados y muchos herbicidas y fungicidas. Tal y como hemos revisado, dicha adsorción estará condicionada por multitud de factores, como pueden ser sus propias propiedades estructurales (Zhang et al., 2013), y las propiedades redox de dicho biochar (Klöpfer et al., 2014).

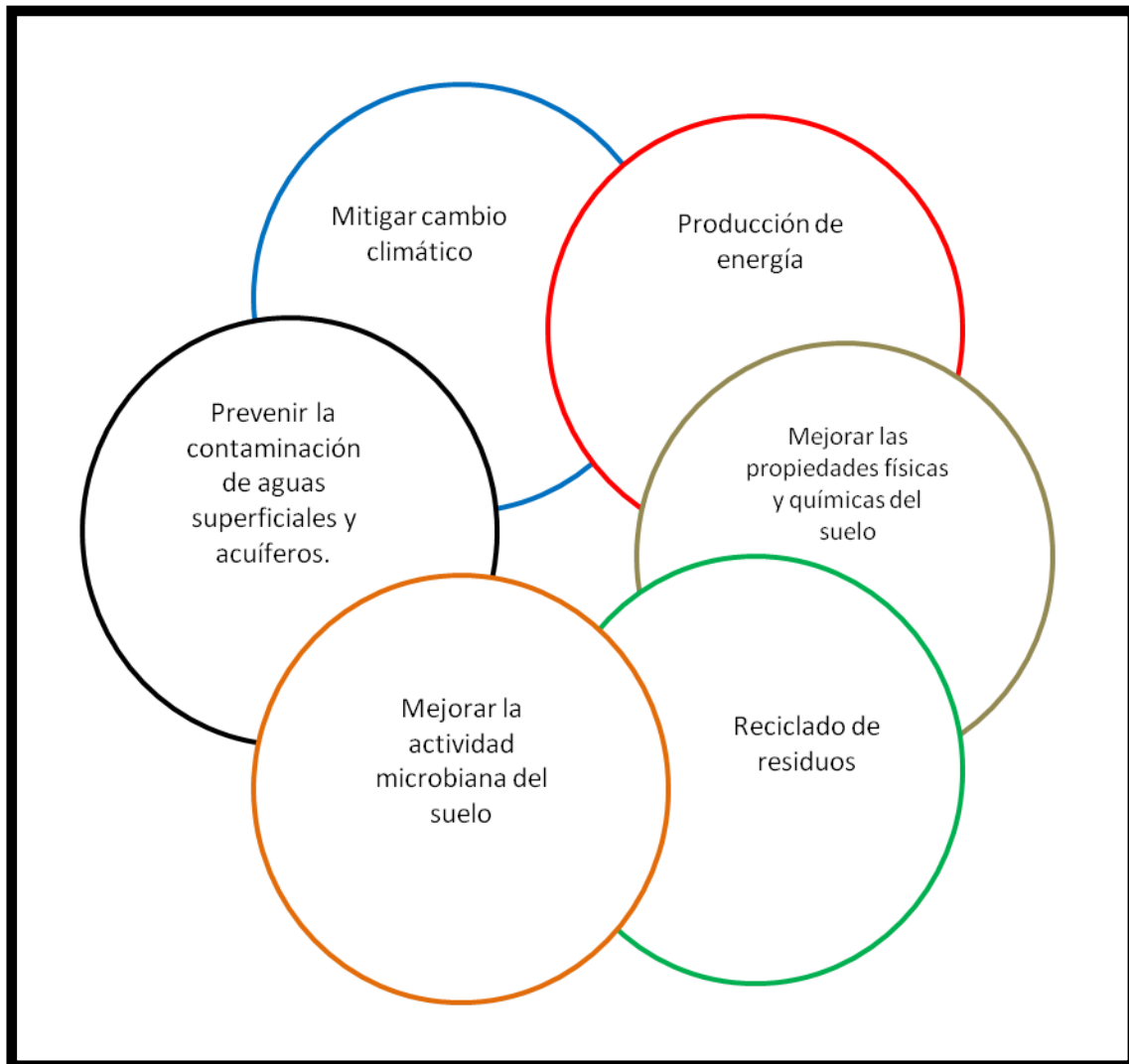


Figura I.6. Principales motivos para la aplicación de biochar al suelo.

I.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los sistemas intensivos de explotación agrícola, como es el caso del cultivo de arroz, presentan un elevado riesgo de contaminación, tanto por las condiciones de cultivo, como por la cantidad y diversidad de productos fitosanitarios usados a lo largo del ciclo de cultivo. Como hemos podido comprobar en la bibliografía existente sobre el comportamiento de plaguicidas en suelos y su interacción con diferentes tipos de enmiendas orgánicas, son muy diversos los resultados obtenidos para cada tipo de suelo y para cada tipo de enmienda. De ahí la necesidad de llevar a cabo un profundo estudio de las condiciones particulares de este cultivo, generalmente en condiciones de inundación, de forma previa a la aplicación de cualquier enmienda orgánica y/o producto fitosanitario.

El estudio de la adsorción – desorción de plaguicidas al suelo o a los sedimentos, resulta de especial interés. Dicha adsorción determinará la cantidad de los mismos que estará presente en la disolución en contacto con el suelo, así como su lixiviación y disponibilidad para su degradación. Todo ello influirá en el riesgo de contaminación de ambientes cercanos. Por tanto, el estudio de los procesos de adsorción de plaguicidas, en un cultivo predominante de nuestra región, como es el cultivo de arroz bajo condiciones de inundación, se presenta como una herramienta esencial para evaluar los posibles riesgos de contaminación asociados a esta práctica agrícola.

Ante dicha problemática, este trabajo propone la introducción de diferentes tipos de enmiendas orgánicas procedentes de residuos relacionados con la industria oleícola, con la triple función de mejorar las condiciones del suelo, las del cultivo y la de prevenir la contaminación del entorno cercano. Entre dichas enmiendas, se propone el residuo carbonáceo llamado biochar, derivado de la pirolisis de biomasa, el cual ha ganado gran interés como enmienda orgánica de suelos en las últimas décadas. Su relación con diferentes reacciones del suelo y el establecimiento de un equilibrio redox en el mismo ha sido objeto de numerosos trabajos. Dichas reacciones facilitan la modificación de propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo, con un importante impacto en el comportamiento de contaminantes y en la emisión de gases de efecto invernadero, en su estructura y fertilidad y, por tanto, en la producción agrícola.

I.3. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS DE LA TESIS

El presente trabajo profundiza en el estudio del comportamiento de diferentes plaguicidas en suelos cultivados bajo condiciones de inundación, concretamente en relación al cultivo de arroz. Con objeto de minimizar los riesgos de contaminación asociados a dichos plaguicidas, así como mejorar las propiedades del suelo, se estudió la aplicación de diferentes tipos de enmiendas orgánicas.

Entre las enmiendas empleadas se encuentran el compost de alperujo y diferentes tipos de biochars, obtenidos a partir de dicho compost y de otros residuos orgánicos procedentes de otros cultivos (arroz o trigo) y de la cabaña ganadera. Las propiedades de tales enmiendas y su potencial efecto paliativo fueron analizadas en relación a varios plaguicidas intensamente empleados en la región andaluza. A su vez, a través de diferentes parámetros agronómicos se comprobó el efecto de dichas enmiendas sobre el propio cultivo de arroz. También se estudió la influencia del compost de alperujo sobre la estructura microbiana del suelo en condiciones reales de cultivo.

De ese modo, los objetivos específicos planteados para este proyecto de tesis fueron estudiar y establecer:

- El efecto del compost de alperujo sobre diferentes propiedades superficiales del suelo.
- Su efecto sobre la estructura microbiana del suelo y la emisión de gases de efecto invernadero.
- Los posibles efectos beneficiosos y/o adversos de dicho compost sobre la propia planta de arroz.
- Su influencia, aplicado en suelos bajo condiciones de inundación, sobre la dinámica de distintos plaguicidas empleados en el cultivo de arroz.
- La obtención y caracterización de biochar a partir de compost de alperujo y otros residuos orgánicos.
- La idoneidad de dicho biochar como agente bioremediador en suelos cultivados bajo condiciones de inundación.

Para todo ello, se llevaron a cabo diversos ensayos de laboratorio y en condiciones de campo.

Concretamente:

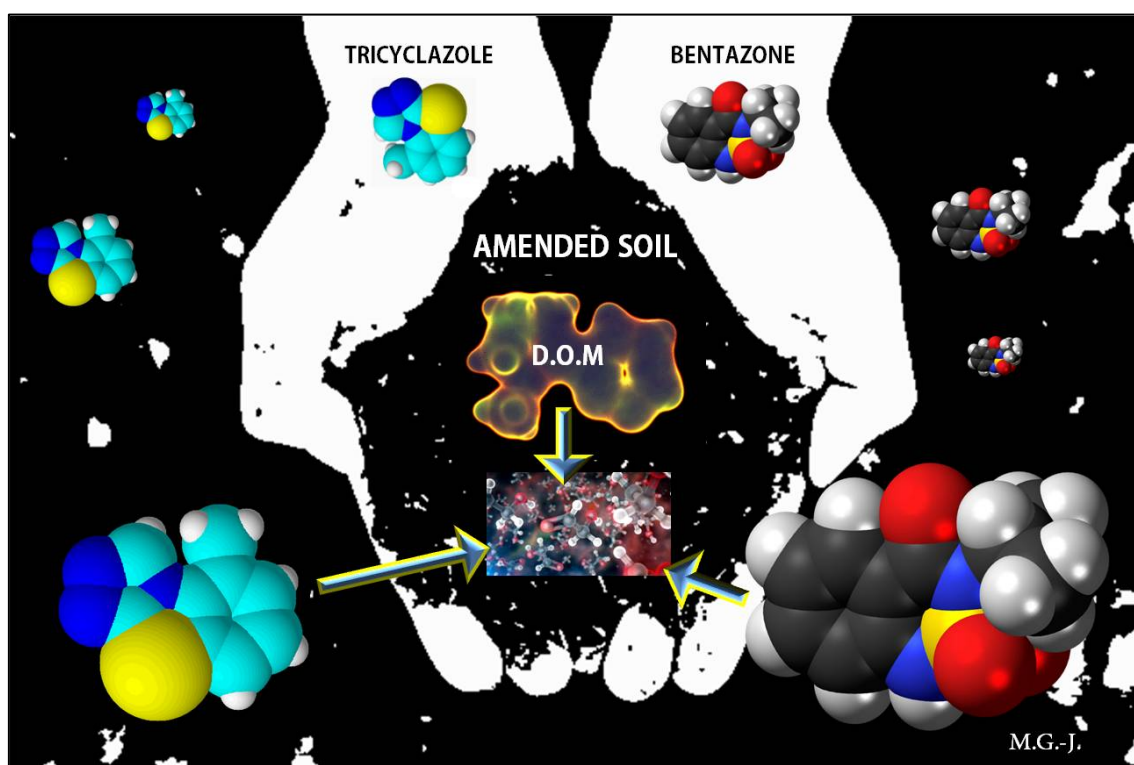
- El *Capítulo II* describe el efecto de diferentes tipos de enmiendas orgánicas aplicadas a suelos sobre el comportamiento de un herbicida (bentazona) y un fungicida (triciclazol), ampliamente utilizados en el cultivo de arroz en nuestra provincia. Para ello, se realizaron estudios de adsorción-desorción, lixiviación, así como la caracterización de las propiedades de suelos y enmiendas, haciendo especial hincapié en las propiedades de la materia orgánica soluble y su importante papel en la lixiviación de dichos compuestos a través de los primeros 15 cm del horizonte A del suelo.
- El *Capítulo III* se centra en los efectos del herbicida azimsulfurón en diversas funciones del suelo y bajo distintas condiciones de cultivo (inundación y siembra directa). Además propone la enmienda con compost de alperujo para paliar los efectos adversos derivados del uso de dicho herbicida sobre la comunidad microbiana del suelo. También se analizan los efectos de este herbicida sobre la emisión de gases de efecto invernadero en suelos enmendados con compost de alperujo. Dicho trabajo fue realizado durante una estancia de tres meses en la Universidad de Ámsterdam (IBED-ESS).
- En el *Capítulo IV* se relatan diferentes aspectos derivados del uso de compost de alperujo en cultivos de arroz bajo condiciones de inundación, así como su efecto en las propiedades superficiales del suelo, en la germinación y crecimiento de *Oryza sativa*, en la disipación del fungicida triciclazol y en la estructura de las principales comunidades fúngicas y bacterianas del suelo. Para ello se llevaron a cabo ensayos de campo, en balsas experimentales, durante tres años consecutivos.
- El *Capítulo V* se centra en la caracterización de diferentes tipos de biochars y en la obtención de un proceso metodológico sistemático que permita la selección de la enmienda más apropiada para la retención de triciclazol en suelos cultivados bajo condiciones de inundación. Dicho trabajo se centró en la caracterización molecular y estructural de la superficie de dichos biochars.
- El *Capítulo VI* detalla los efectos derivados de la enmienda de suelos con biochar, a corto y largo plazo, sobre el comportamiento de dos herbicidas (azimsulfuron y penoxsulam), ampliamente empleados en el cultivo de arroz, y que presentan un elevado riesgo de contaminación de aguas subterráneas y otros entornos cercanos por lixiviación y escorrentía. Para ello se llevaron a cabo diversos ensayos de adsorción-desorción a partir de biochars frescos y lavados y de dos tipos de suelos con

y sin dichas enmiendas. Este trabajo fue realizado durante una segunda estancia de cuatro meses en la Universidad de Ámsterdam (IBED-ESS).

- La última parte de esta tesis, *Capítulo VII*, trata de unificar los principales resultados obtenidos a lo largo del trabajo con una discusión general de los mismos, así como sintetizarlos en una serie de conclusiones generales.

CAPÍTULO II

EFFECTS OF SOIL ORGANIC AMENDMENTS ON THE BEHAVIOR OF BENTAZONE AND TRICYCLAZOLE.



M. García-Jaramillo, L. Cox, J. Cornejo and M.C. Hermosín

(Published in *Science of the Total Environment* 2014, 466 – 467: 906 – 913)

Abstract

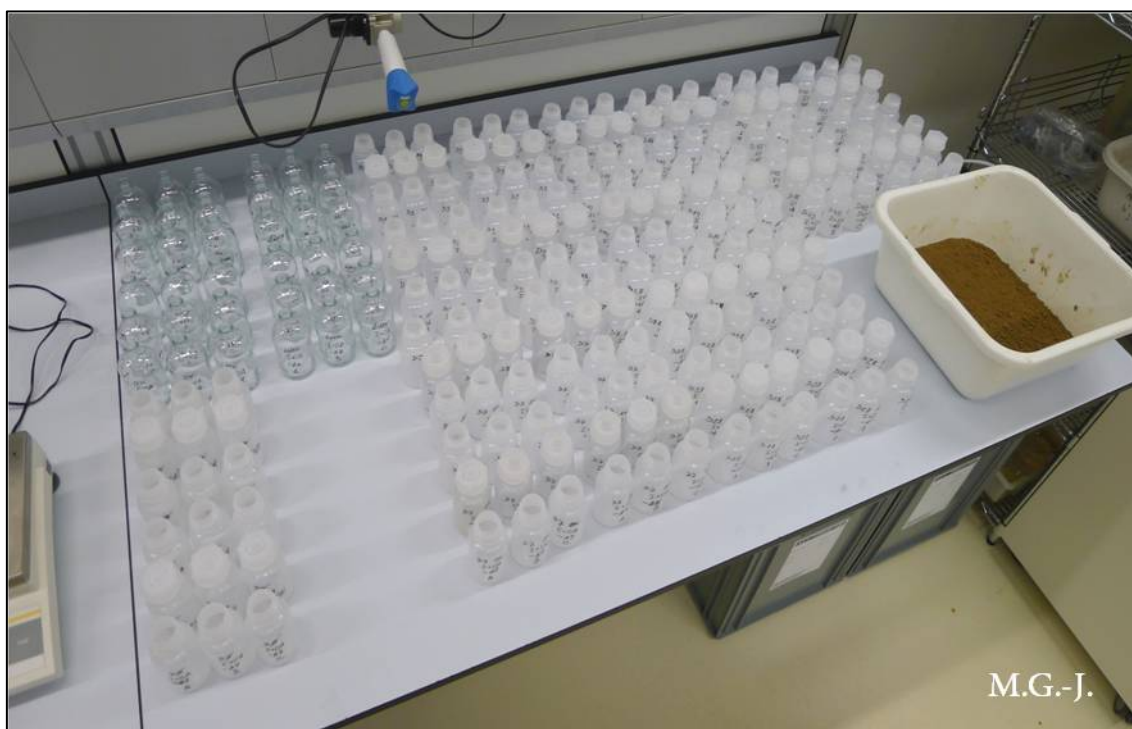
The effect of soil amendment with different organic residues from olive oil production on the sorption and leaching of two pesticides used in rice crops (bentazone and tricyclazole) was compared in order to understand their behavior and to improve soil properties by recycling an abundant agricultural residue in Andalucía (S. Spain). A residue from olive oil production (AJ), the organic compost derived from this organic waste (CA) and a biochar (BA) made from CA were used. A soil devoted to rice cultivation, IFAPA (I), was amended at 2% (w/w) of each amendment individually (I+AJ, I+CA and I+BA). In order to evaluate the effect of dissolved organic matter (DOM) from these amendments on bentazone and tricyclazole behavior, the DOM from the amendments was extracted, quantified and characterized by fluorescence spectroscopy and FT-IR. The affinity of DOM for soil surfaces was evaluated with (I) soil and two other soils of different physicochemical properties, ARCO (A) and GUAD (G). These studies revealed differences in DOM quantity, quality and affinity for the used soils among amendments which can explain the different sorption behavior observed for tricyclazole in the amended soils. Leaching assays under saturated/unsaturated conditions revealed a slight delay of bentazone in I+CA and I+BA soils when compared to I+AJ, that can be related to the higher DOM content and much lower specific surface area of AJ. In contrast, tricyclazole was not detected in any of the leachates during the leaching assay. Extraction of tricyclazole residues from soil columns showed that the fungicide did not move below 5 cm in the higher sorptive systems (I+CA, I+BA). The sorption of DOM from amendments on soil during the transport process can decrease the mobility of the fungicide by changing the physicochemical properties of the soil surface whose behavior may be dominated by the adsorbed DOM.

II.4. Conclusions

The DOM analysis and the affinity studies carried out with the amendments and selected soils revealed higher affinity of DOM from BA for the soils studied due to remarkable differences in the molecular structure, as it was corroborated by fluorescence and infrared spectroscopy. Sorption experiments carried out with (I) soil and all the amendments showed very low adsorption in unamended and amended soils for bentazone, due mainly to the anionic nature of this herbicide and its high hydro-affinity. In the case of tricyclazole, highest sorption was observed in soils amended with BA despite the lower OM content of this amendment as compared with AJ and CA. Tricyclazole was not detected in any of the leachates and was just partially recovered from the soil fractions. The lowest amount was recovered in columns hand-packed with I+BA, in relation with the highest sorption observed for this soil. Thus, the complexity of the nature of the DOM from the amendment and its specific surface area, both higher in the case of BA, could be the main factors determining the behavior of tricyclazole in amended soils.

CAPÍTULO III

**EFFECTS OF AZIMSULFURON ON SOIL FUNCTIONS UNDER OXIC AND ANOXIC
CONDITIONS AS AFFECTED BY AMENDMENT WITH GREEN WASTE COMPOST.**



M. García-Jaramillo, L. Cox, M.C. Hermosín, C. Cerli and K. Kalbitz

(Manuscript in preparation)

Abstract

The effects of the herbicide azimsulfuron on important soil functions as C turnover and the emission of greenhouse gases were studied, under oxic and anoxic conditions. In addition, we tested the effect of green waste compost on these functions. We conducted a 43 days incubation experiment under oxic and anoxic conditions and determined the dissipation of the herbicide azimsulfuron, C mineralization, soil microbial biomass (SMB), contents of dissolved organic C (DOC) and its UV absorbance, and the emissions of CO₂, CH₄ and N₂O. No significant differences were found in the dissipation of azimsulfuron under oxic and anoxic conditions. However, the application of compost tended to increase the dissipation of the herbicide. The contents of DOC were significantly lower under oxic-unflooded conditions, and these differences were more remarkable in compost amended soils. The amendment with compost significantly increased carbon turnover, under oxic (cumulative CO₂ emission of about 2g CO₂-C/g soil C) and anoxic (between 60 and 100mg CH₄-C/g soil C) conditions. Under anoxic conditions, the herbicide caused a drastic reduction of the SMB. The addition of compost had a positive effect on SMB, and balanced out the adverse effects of azimsulfuron on the soil microbial community.

III.1. Introduction

Over the last five decades, intensive agriculture has dramatically increased the use of chemical fertilizers and pesticides. Concerns have been raised over the sustainability of this practice, which has become associated with numerous environmental problems, such as the loss of soil and water quality, an increase in emission of greenhouse gases, and a significant reduction of biodiversity. Rice cultivation under traditional land practices (i.e. alternating flooded and unflooded conditions) results in the formation of paddy soils and occupies more than 162.3 million hectares on Earth. This type of management is recognized as a high risk scenario because of its potential to contaminate surface water and groundwater with a large variety of xenobiotic compounds.

Paddy soils are characterized by large quantities of dissolved organic carbon (DOC) and important emissions of greenhouse gases (Katoh et al., 2004). However, these high DOC concentrations found under anoxic conditions does not always result in an equivalent increase in carbon mineralization (Hanke et al., 2013), possibly due to a lack of alternative electron acceptors. Moreover, the sorption and behavior of pesticides in agricultural soils is strongly related to changes in environmental conditions (Sheng et al., 2005). The larger amount of DOC typical of flooded conditions influences pesticide adsorption and desorption processes and hence, their bioavailability and dissipation (Cox et al., 2007; García-Jaramillo et al., 2014).

Azimsulfuron, the active component of the commercial herbicide Gulliver® (Du Pont de Nemours, Milan, Italy) is a post emergence sulfonylurea widely used in weed control of rice fields. Its mechanism of action is based on the inhibition of acetolactate synthase, blocking the amino acid biosynthesis in plants and micro-organisms (Brown 1990). Because of its high water solubility and persistence, the potential impact of azimsulfuron on surface water and groundwater is of great concern (Brusa et al., 2001; Kim et al., 2003). Also, adverse effects of azimsulfuron on the soil bacterial communities have been previously described (Valle et al. 2006). The sorption of azimsulfuron on soil has been controversial: some authors (Pusino et al., 2004; Pinna et al., 2007) affirm that is largely influenced by pH and soil colloid content, and other reports (EFSA, 2010) disagree with that conclusion on the pH dependency of soil adsorption.

Over the past two decades, the use of organic green wastes from various origins as soil amendment has increased globally. This land management is accepted as an ecological method for the disposal of organic waste, while it simultaneously increases soil fertility and changes soil functions as carbon turnover and the emission of greenhouse gases (Jiang et al., 2014). Organic amendments increase organic matter content and soil microbial activity, accelerating carbon and nitrogen mineralization (Roig et al., 2012). Additionally, organic amendments may prevent losses of pesticides from runoff or leaching due to an increase in pesticide adsorption or in pesticide persistence (Barriuso et al., 1997; Gámiz et al., 2012). However, organic amendments can also enhance pesticide leaching, as it has been described for other pesticides (Fernandes et al., 2006; Cox et al., 2007). These results stress the importance of proper screening before any compost application, especially in paddy fields due to the variability of biogeochemical processes related to changes in redox conditions.

The main objectives of this work were to study the effects of the sulfonylurea azimsulfuron on C turnover and the emission of greenhouse gases as important soil functions under oxic and anoxic conditions after the amendment with green waste compost (alperujo compost, AC). We conducted a 43 days incubation experiment and monitored the dissipation of the herbicide azimsulfuron under oxic and anoxic conditions, C mineralization, microbial biomass, DOC contents and its nature, and the emissions of CO₂, CH₄ and N₂O.

The following hypotheses were tested: a) the addition of azimsulfuron may reduce C turnover (i.e. decrease C mineralization, the emission of greenhouse gases and microbial biomass); b) the addition of compost may enhance the amount of readily available organic carbon favoring C turnover and the dissipation of azimsulfuron; c) this increase may be higher under flooded conditions due to a larger solubilization of bioavailable organic carbon; d) the larger amount of DOC in soil after the addition of compost may favor the partitioning of azimsulfuron into DOC and in this way decrease its adsorption to the soil.

III.2. Materials and methods

III.2.1. Soil and organic amendment

The soil used in the incubation assay was collected from the Guadalquivir river valley (37° 13' 55" N – 6° 8' 32" W) and traditionally devoted to rice crops, though it has not been cultivated in the last several years. Soil was transported to the laboratory in plastic jars and stored at 4 °C until the experiment was carried out. We selected an organic residue from the olive oil industry, alperujo, composted with straw and sheep manure in the research station IFAPA - Centro Venta del Llano, Jaén (Spain) in 2013. Air-dried soil was amended at a rate of 2% (w/w) with this compost. Soil texture was determined by sedimentation using the pipette method (Sheldrick & Wang 1993) and clay mineralogy by X-ray diffraction on oriented specimens (Jackson, 1975). Soil pH was measured in a 1:2.5 (w/v) soil/deionised water mixture. Organic matter content was determined according to Walkley & Black (1934) and the total nitrogen (TN) by the Kjeldahl method (Benton, 1991). Dissolved organic C and TN were obtained by aqueous extraction with calcium chloride (5 mmolL⁻¹) and determined with a total organic carbon/nitrogen analyzer (TOC-V_{CPH}, Shimadzu, Kyoto, Japan). The extraction ratio was 1:5 (soil/solution).

III.2.2. Herbicide

Analytical grade azimsulfuron (≥97% purity) was supplied by Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany). Water solubility is 1050 mg l⁻¹ (20 °C), pK_a = 3.6 and its GUS (groundwater ubiquity score) leaching potential index is 3.9, which labeled with high lixiviation risk (Tomlin, 2006). This compound was used to prepare the initial pesticide solutions used as external standards for pesticide analysis, and to carry out all of the experimental assays.

III.2.3. Incubation experiment and monitoring procedure

Before starting the experiment, soils with and without amendment were pre incubated for a week at 40% water holding capacity (WHC) and kept in darkness at 20 °C. Three different sets were prepared: [1] plastic flasks (15 g soil) were used to monitor pesticide dissipation, to analyze DOC, and to measure the pH, EC and active manganese; [2] glass flasks, sealed with a rubber stopper, were used for the gas measurements; [3] similar glass flasks, with a plastic lid, were used for the determination of the SMB at the beginning and at the end of the incubation period. All experiments were carried out in triplicate. Glass and plastic flasks had the same dimensions in order to minimize possible differences related to the thickness of the water layer. Incubation was performed at two different water and oxygen contents:

oxic and unflooded conditions (21% oxygen, 60% WHC) and anoxic and flooded conditions (0.3 - 0.5% oxygen and 200% WHC). Anoxic conditions were obtained with a N₂ atmosphere inside a glove box (Scala Scientific, Plas Labs, Lansing, MI. USA). The concentration of oxygen inside the glove box was tested every day and kept between 0.3 and 0.5 mg L⁻¹.

An azimsulfuron solution, prepared at 2 mg L⁻¹, was added to half of the incubation flasks in the amount necessary to achieve a dose of 200 g ha⁻¹. Before placing the anoxic set inside the glove box, the headspace was exchanged, making a vacuum and flushing it with N₂ (5.0 purity, 99.99% N₂, Praxair, Vlaardingen, the Netherlands), in order to get the level of oxygen as low as possible from the onset of the experiment. An extra set with previously sterilized soil at high pressure and 120 °C was used for biodegradation studies.

The measurements (EC, pH, DOC, TN, absorbance at 280 nm, Mn concentration, and herbicide dissipation) were carried out on 0, 3, 7, 14, 28 and 43 days of the incubation period. At each sampling day, the necessary amount of a 5 mmolL⁻¹ CaCl₂ solution was added to the flasks under oxic and anoxic conditions to get an extraction ratio of 1:5 (soil/solution). The calcium chloride solution added to the anoxic samples was previously flushed with N₂ for 2-3 hours to reduce the amount of oxygen introduced into the glove box. The flasks were shaken over night at 20 °C and centrifuged at 3000 rpm for 10 min, then filtered through pre-rinsed 0.45-µm cellulose-acetate filters (Zhao et al., 2008) and kept at 4 °C till analysis.

III.2.4. Physical and chemical analysis and GHG determination

The EC and pH values were measured in the calcium chloride extracts. Active manganese was also quantified in the calcium chloride extracts by ICP-AES (Perkin Elmer, Optima 3000 XL). Specific UV absorbance at 280 nm (UV280) was measured immediately after filtration using a Spectroquant pharo 300 spectrometer (Merck KGaA, Darm-stadt, Germany). DOC was determined in the same extracts by a TOC analyzer (TOC-V_{CPH}, Shimadzu, Kyoto, Japan).

Concentrations of CO₂, CH₄ and N₂O in the headspace were determined by gas chromatography (TraceTM Ultra Gas Chromatograph, Thermo Fisher Scientific) with different detectors: CH₄ was detected by the flame ionization detector; CO₂ was determined connecting a methanizer to the flame ionization detector; N₂O was determined using an electron capture detector. We exchanged the headspace of the flasks after 3 weeks to avoid possible toxic effects on the microbial community because of the high content of CO₂. Concentrations of CO₂ and CH₄ were used to calculate cumulative C mineralization during the experiment (n = 3 for each soil).

III.2.5. Azimsulfuron analysis in soil and solution

Azimsulfuron dissipation was monitored in the calcium chloride extract and after a subsequent extraction with acetonitrile 1:2 (w/v). All extracts were stored at -20°C until analysis. The total amount of azimsulfuron recovered for each condition, in relation with the total amount of herbicide added to the soil, was calculated. Azimsulfuron was analyzed by HPLC using a Chromatograph Prominence System coupled to a diode-array detector (Shimadzu, Kyoto, Japan). The separation was achieved with a Phenomenex[®] Lichrosphere 5 RP-18, 125x4mm, equipped with a pre-column of C18 silica. Injection volume was 25 μl . The mobile phase was a mixture of acetic acid (0.05%) and acetonitrile (65:35) at a flow rate of 1 ml min^{-1} under isocratic conditions and the wavelengths monitored for UV detection was 242 nm.

External calibration curves were obtained analyzing standard solutions in ultrapure water and acetonitrile at concentrations ranging from 0.01 mg L^{-1} to 2 mg L^{-1} . A very high linearity was always obtained ($p < 0.0001$). Quantification was based on chromatographic peak areas. Limits of detection and quantification were assessed observing the signal to noise ratio (S/N) and considering LoD as the concentration with $S/N=3$ and LoQ as the concentration with $S/N=10$. LoD values were around 0.005 mg L^{-1} for this pesticide. Values of LoQ (in concentration) were always around 0.01 mg L^{-1} .

III.2.6. Soil microbial biomass

Microbial biomass (bacteria and fungi) is an indicator of the living component of soil organic matter. Soil microbial biomass C (SMB C) was determined before and at the end of the incubation period by the chloroform fumigation-extraction method (Joergensen, 1996; Witt et al., 2000). Fumigated and non-fumigated soil samples were subsequently extracted with $0.05\text{ M K}_2\text{SO}_4$ (5 g in 25 ml) by shaking for 1 hour at (150 rpm) at room temperature, followed by centrifugation (3000 rpm over 10 minutes), and filtration as described by Wang et al., 2013. DOC concentrations were determined by a TOC analyzer (TOC-V_{CPH}, Shimadzu, Kyoto, Japan).

The biomass carbon was calculated by dividing the difference between the extracted DOC in fumigated and non-fumigated soil samples by a conversion factor (k_{EC}) of 0.45, which is defined as the extractable part of the microbial biomass C after fumigation (Joergensen, 1996). Sterilized controls of amended and non-amended soils were also assayed.

III.2.7. Statistical analysis

The statistical significance of differences in azimsulfuron dissipation (in soil and solution), cumulated CO_2 and CH_4 , N_2O emissions, DOC and SMB were tested using repeated measures ANOVA. Statistical analyses were performed with SPSS 22.0 (IBM

Corp., USA). All data were normally distributed (Saphiro–Wilk test). Significant test results (considered statistically significant at a $p < 0.05$ level of probability) were followed by Duncan and Tukey’s test for identification of important contrasts.

III.3. Results

III.3.1. Soil properties, carbon mineralization and GHG

Physical and chemical properties of the soil, the amendment and the amended soil are shown in Table 1. The amendment with AC produced a large increase in the amount of DOC (two times higher in the amended soil than in the non-amended). However, it did not entail a proportional increase in the relative amount of total OM. We also observed a significant increase in TN and EC after AC application.

Table 1. Physical and chemical properties of the soil, the amendment, and the amended soil. Organic matter (OM), dissolved organic carbon (DOC), total carbon (TC), inorganic carbon (IC), total nitrogen (TN), pH and electrical conductivity (EC).

	OM (%)	DOC (mg/L)	TC (mg/L)	IC (mg/L)	TN (mg/L)	pH	EC (mS/cm)	sand, silt, clay (%)	illite, kaolinite, smectite (%)
Soil	0.9	1.94	3.45	1.51	0.46	8.3	0.113	43, 37, 20	59, 8, 33
Alperujo Compost (AC)	57.2	377.08	382.9	5.82	33.72	8.7	4.725	-	-
Soil + AC (2%)	1.1	4.78	6.55	1.77	0.71	8.2	0.182	-	-

Differences in accumulated CO₂-C among amended and non-amended soils increased during the incubation period under oxic and anoxic conditions (Fig. 1a, 1b). The presence of AC increased significantly cumulative CO₂-C. The application of the herbicide azimsulfuron slightly reduced the mineralization of carbon, especially in composted amended soils. The highest mineralization rate was observed in the soil amended with AC, under oxic conditions, without herbicide application. Under anoxic-flooded conditions, the mineralization of carbon was very low throughout all the incubation period, especially in non-amended soils.

Differences in the accumulated $\text{CH}_4\text{-C}$ also increased during the incubation period (Fig. 1c, 1d). The emissions of CH_4 under oxic-unflooded conditions were very low in comparison to the emissions monitored under anoxic-flooded conditions, which were also very low till day 28. The addition of azimsulfuron produced a significant reduction of cumulative $\text{CH}_4\text{-C}$ (Fig. 1c, 1d), both under oxic and anoxic conditions. The highest cumulative $\text{CH}_4\text{-C}$ was measured under anoxic-flooded conditions in amended soils, after 43 days of soil incubation.

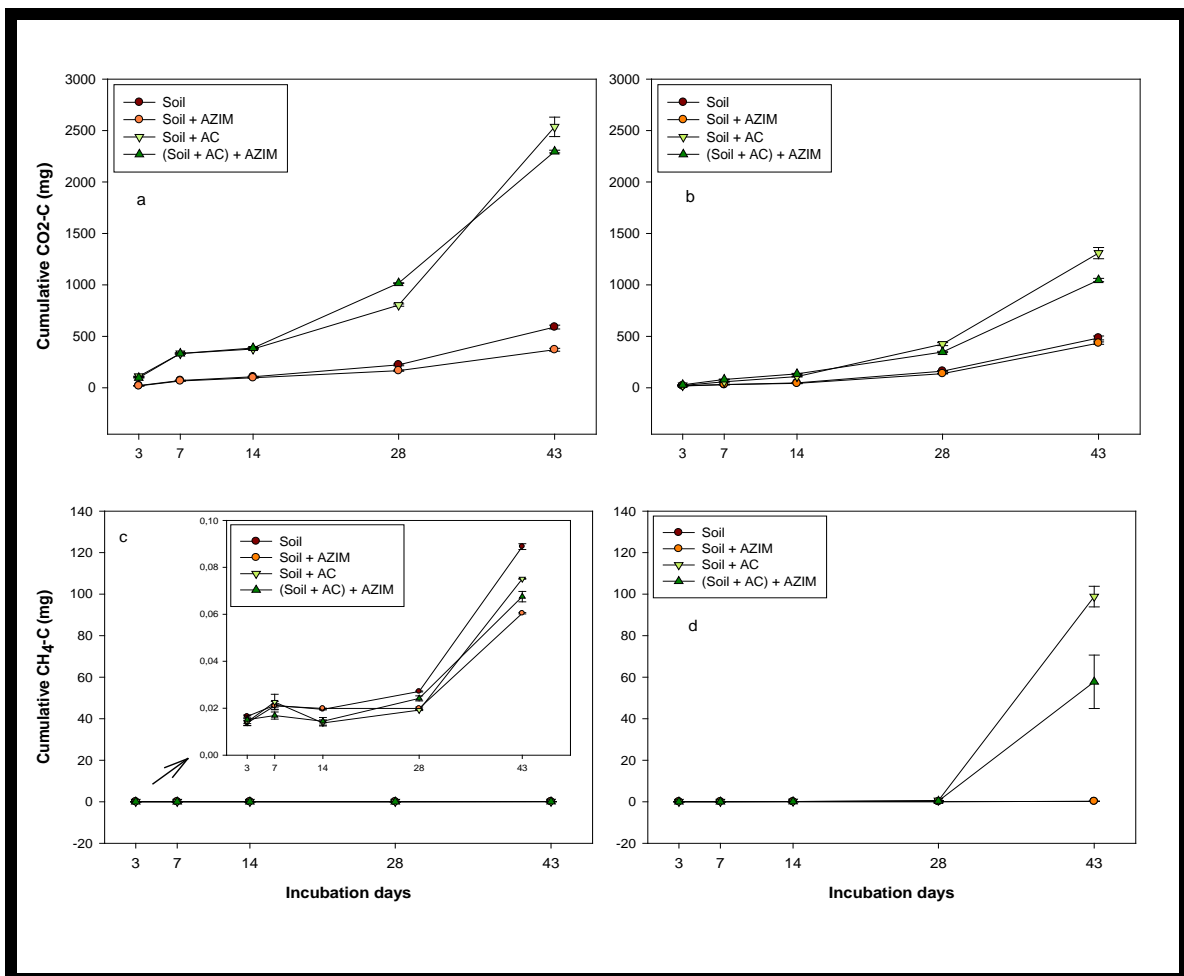


Figure 1. Carbon mineralization, expressed in mg $\text{CO}_2\text{-C}$ (a, b) and mg $\text{CH}_4\text{-C}$ (c, d) per gram of total organic carbon under oxic-unflooded (a, c) and anoxic-flooded conditions (b, d). Soil; Soil + AZIM (soil with herbicide application); (Soil + AC) (soil with 2% of alperujo compost); (Soil + AC) + AZIM (soil with 2% of alperujo compost and herbicide application). Mean and standard error of three replicates.

The addition of azimsulfuron under oxic-unflooded conditions in non-amended soils resulted in a reduction of the N₂O emissions, especially after 43 days of the incubation (Fig. 2). No significant differences in N₂O emissions between the presence and the absence of azimsulfuron were observed in amended soils till day 28. The presence of AC significantly increased N₂O emissions after 43 days. It was not possible to detect N₂O emissions under anoxic-flooded conditions.

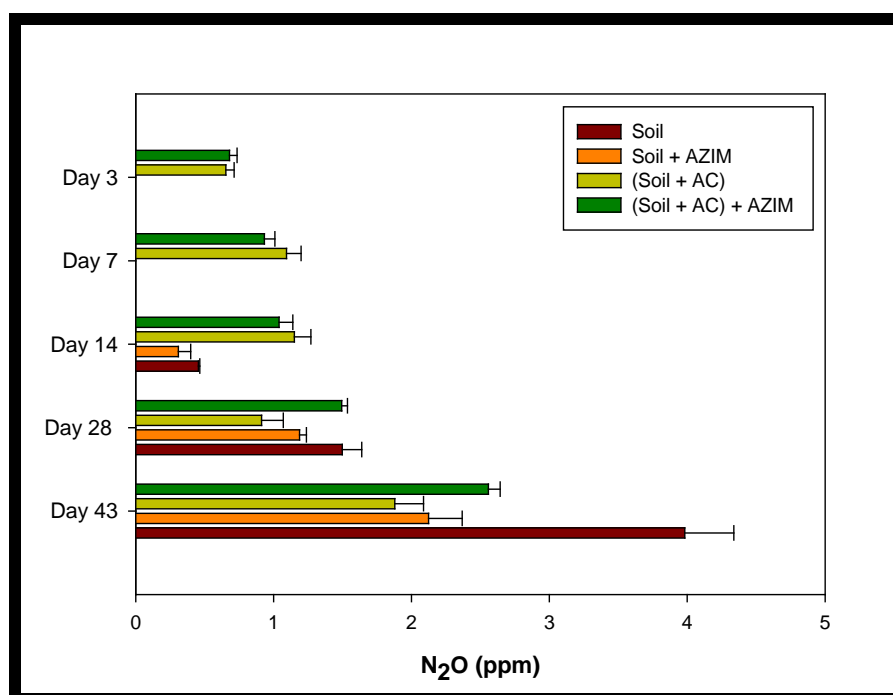


Figure 2. N₂O emissions measured during the incubation assay under oxic-unflooded conditions. Soil; Soil + AZIM (soil with herbicide application); (Soil + AC) (soil with 2% of alperujo compost); (Soil + AC) + AZIM (soil with 2% of alperujo compost and herbicide application). Mean and standard error of three replicates.

III.3.2. DOC and specific UV absorbance

Differences in DOC between the treatments were constant throughout all the incubation period (Fig. 3). The concentration of DOC in amended soils was approximately 4-5 times higher than in non-amended ones, both under oxic (unflooded) and anoxic (flooded) conditions. The highest values of DOC were

measured in the amended soils, under anoxic-flooded conditions, after 28 days. The specific UV absorbance of DOC at 280 nm decreased during the period of incubation time and it was higher in the amended soils than in the non-amended ones (Fig. 4). The presence of azimsulfuron did not affect these results.

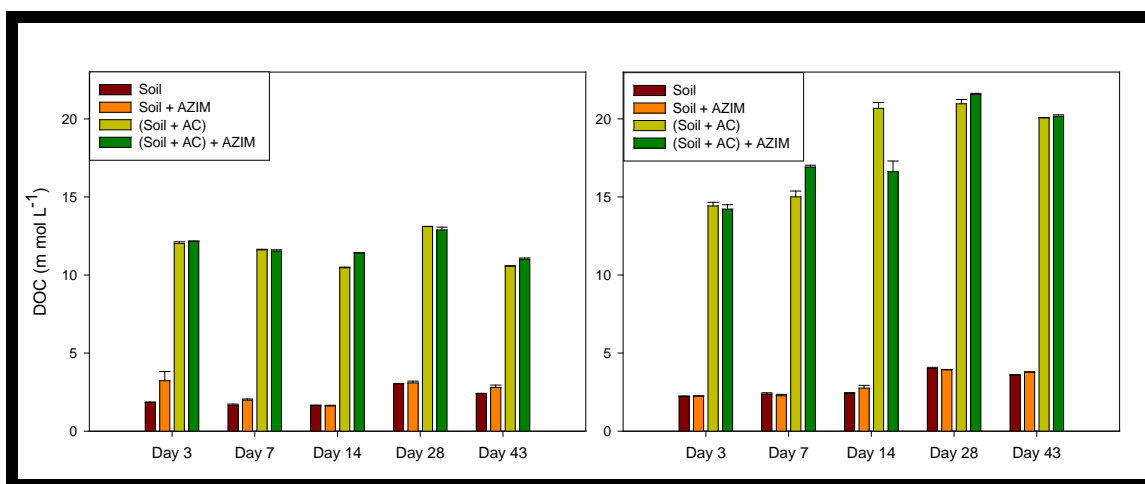


Figure 3. DOC under oxic-unflooded (a) and anoxic-flooded (b) conditions throughout the incubation period: Soil; Soil + AZIM (soil with herbicide application); (Soil + AC) (soil with 2% of alperujo compost); (Soil + AC) + AZIM (soil with 2% of alperujo compost and herbicide application). Mean and standard error of three replicates.

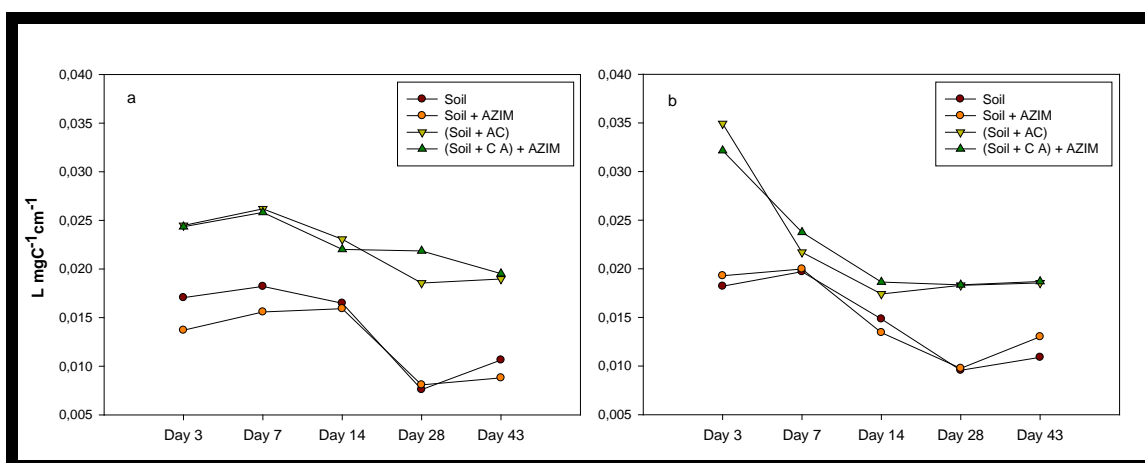


Figure 4. Specific UV absorbance at 280 nm divided by the DOC throughout the incubation period under oxic-unflooded (a) and anoxic-flooded conditions (b). Soil; Soil + AZIM (soil with herbicide application); (Soil + AC) (soil with 2% of alperujo compost); (Soil + AC) + AZIM (soil with 2% of alperujo compost and herbicide application). Mean and standard error of three replicates.

III.3.3. Herbicide dissipation

No significant differences in herbicide dissipation were observed in the aqueous solution (Fig. 5a, 5b), between oxic and anoxic conditions and following the compost application. The azimsulfuron amounts in that first aqueous extraction were generally higher in the sterilized soil than in the non-sterilized. This is observed in almost all sampling times for oxic conditions (Fig. 5a) and only after 28 and 43 days for anoxic conditions (Fig. 5b). All those amounts showed a slight decrease with time. By the contrary, the amounts extracted with acetonitrile from the soil (Fig. 5c, 5d) increased with time and, as a general performance, they were higher for non sterilized soil than those from the sterilized one. Comparing the amounts of herbicide extracted from the soil, higher contents were extracted under oxic-unflooded than under anoxic-flooded conditions (Fig. 5c, 5d).

The total recovery of azimsulfuron (Fig. 5e, 5f), soil plus solution, was among 72 (lowest amount recovered, under anoxic-flooded conditions) and 97.5% (highest amount recovered, under oxic-unflooded conditions). The dissipation of azimsulfuron was enhanced by the presence of AC, especially under anoxic-flooded conditions.

III.3.4. Soil microbial biomass

Before soil incubation (day 0), soil microbial biomass C was significantly higher (around 10 mg C g⁻¹ soil C⁻¹) in amended soils than in unamended ones (Table 2). During the incubation period, the amendment with AC resulted in increasing SMB C, both under oxic and anoxic conditions, in soils without azimsulfuron. We observed an adverse effect of the herbicide on the soil microbial biomass under anoxic-flooded conditions. The reduction in the soil microbial biomass was around 5 times in the unamended soil (from 20.74 ± 0.95 to 4.19 ± 0.48) and around 2 times in the amended one (from 28.84 ± 3.72 to 14.92 ± 2.52). Addition of azimsulfuron did not affect soil microbial biomass under oxic conditions (in amended and non-amended soils).

Table 2. Soil microbial biomass carbon (mg C g⁻¹ soil C⁻¹) in non-amended and amended soils. Soil; Soil + Azim: soil with herbicide; Soil + AC: soil amended with alperujo compost; Soil + AC + Azim: soil amended with alperujo compost in presence of herbicide. Mean and standard deviation of two replicates.

	Soil	Soil + Azim	Soil + AC	Soil + AC + Azim
Day 0	14.45 ± 2.23	17.41 ± 0.15	24.93 ± 1.00	25.31 ± 3.89
OXIC Day 43	11.13 ± 0.09	11.72 ± 0.50	30.05 ± 3.93	34.48 ± 1.34
ANOXIC Day 43	20.74 ± 0.95	4.19 ± 0.48	28.84 ± 3.72	14.92 ± 2.52

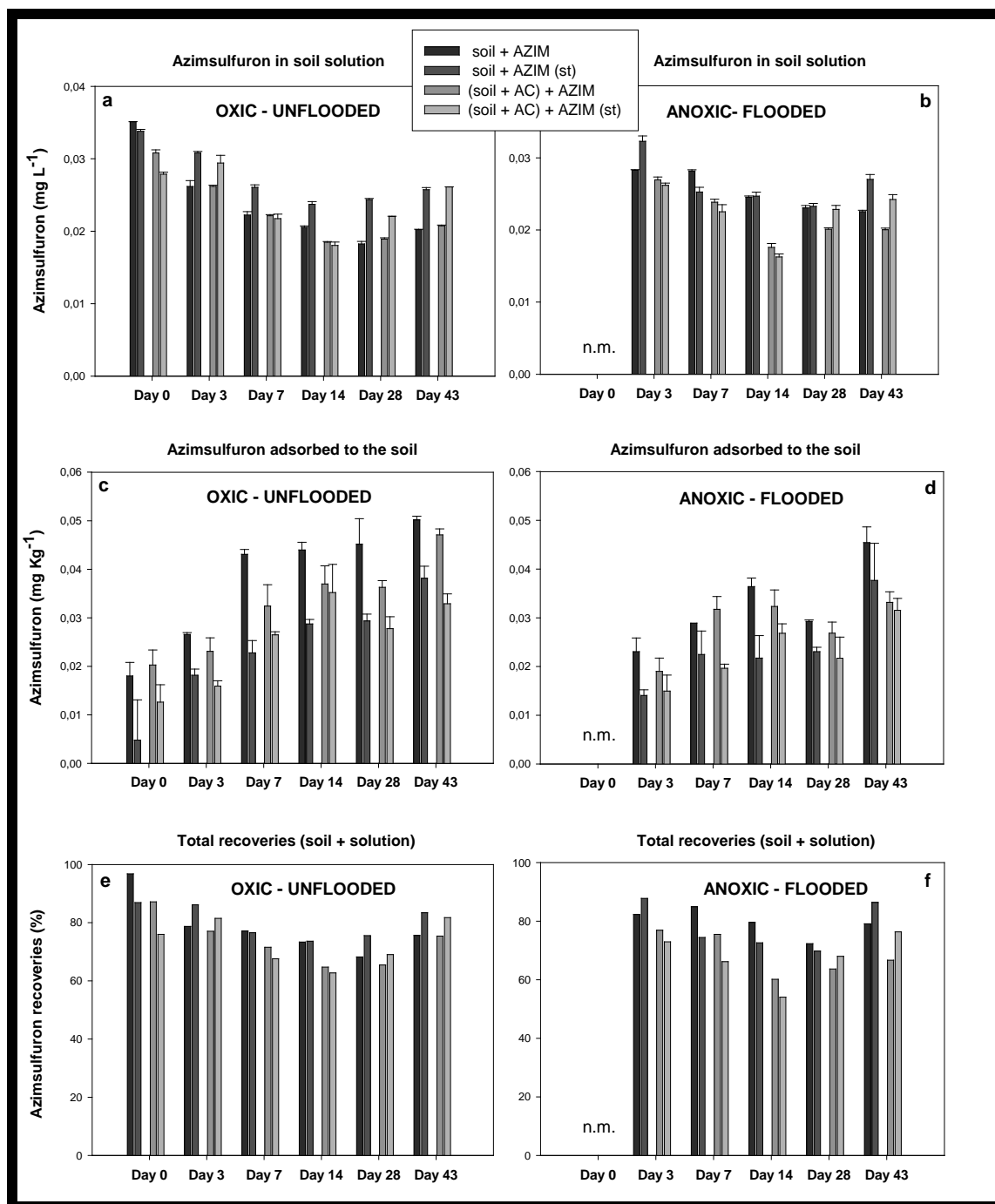


Figure 5. (a,b) Concentration of azimsulfuron in a 5 mM calcium chloride extract, 1:10 (w/v). (c,d) Concentration of azimsulfuron in a subsequent soil extraction with acetonitrile, 1:2 (w/v). (e, f) Total amount of azimsulfuron recovered for each condition in relation with the total amount initially added. (soil+AZIM) soil with herbicide application; soil + AZIM (st) soil with herbicide and sterilized; (soil + AC) +AZIM soil amended with alperujo compost with herbicide application; (soil + AC) +AZIM (st) soil amended with alperujo compost with herbicide application and sterilized. (Mean and standard error of three replicates). (n.m.) value not measured.

III.4. Discussion

We observed a significant increase in the cumulative $\text{CO}_2\text{-C}$ and $\text{CH}_4\text{-C}$ (Fig. 1) in soils amended with compost under flooded and unflooded conditions. Similar results were obtained by Ahmad et al. (2009), where the application of an organic fertilizer significantly increased CH_4 (Fig. 1) and N_2O emissions (Fig 2). Liu et al. (2011) also reported a significant increase in CH_4 and CO_2 emissions from a paddy soil, after rice straw adding. We speculate that we were not able to detect N_2O under flooded conditions because the very low amounts produced of this gas during the incubation period were retained (strongly reduced diffusion) by the shallow water layer.

Paddy soils are subjected to periodically changing redox conditions, which results in important differences in biogeochemical processes (Kögel et al., 2010). Changes from oxic to anoxic conditions may result in reductive dissolution of Fe oxides and release of organic matter as DOC (Sahrawat, 2004). This mechanism has been proposed as the main reason for the larger DOC concentrations (Fig. 3) found under anoxic-flooded conditions (Fiedler & Kalbitz, 2003). The effects derived of variations in the pH, as result of changes in redox conditions, also may influence the adsorption and desorption of organic matter on mineral surfaces, inducing important changes in the bioavailability of organic matter and its mineralization (Curtin D et al., 1998; Guntinas et al., 2009).

The overall change in biogeochemical processes upon changes in redox conditions were reflected by changes in electrical conductivity (EC); (Support information, S1). Values of EC were significantly higher under oxic conditions, and higher in soils amended with AC, as reported previously with a similar amendment by Kavdir et al. (2008). The pH values (results not shown) were higher than 7.4 in all the samples, and slightly higher in amended soils and under anoxic conditions. Under anoxic-flooded conditions, we observed an important increase in concentrations of manganese (Support information, S2) in the extract of the amended soils after two weeks of incubation (values around $200 \mu\text{mol kg}^{-1}$ for the amended soil, and $125 \mu\text{mol kg}^{-1}$ for the amended soil with herbicide application), compared with the very low values (around 0.6 and $5.1 \mu\text{mol kg}^{-1}$) registered in the non amended soil (without and with herbicide application). The high values of manganese measured after 43 days of incubation under flooded conditions reflect the reduction of redox potentials. Under oxic conditions, the amount of Mn measured was always lower than $2.9 \mu\text{mol kg}^{-1}$, both in amended and non-amended soils (results not shown).

The reduction of the specific UV absorbance (Fig. 4), as an indicator of the aromatic character of DOC (Kalbitz et al., 2003), was largest in the amended soil under anoxic-flooded conditions. Its decrease over time indicates the preferential degradation of compost derived organic matter.

Pusino et al. (2004) reported that pH is the main factor influencing the sorption of azimsulfuron on soils and it was negatively correlated with pH and positively

correlated with the organic carbon content. It is also known that azimsulfuron is degraded more quickly under aerobic conditions and in flooded non-sterile soils rather than in sterile ones (Barefoot et al., 1995), suggesting that microbial degradation plays a key role. Boschini et al. (2007) studied the hydrolytic degradation of azimsulfuron at different pH values. Their results showed that the disappearance of azimsulfuron was slower at neutral or basic pH values, with $t_{1/2}$ between 150 and 161 days, than at acid pH values ($t_{1/2}$ = 84 days). The low degradation of azimsulfuron observed in our samples after 43 days, with pH values between 7.4 and 8.0, is in a good agreement with those results. The dissipation of azimsulfuron was stimulated by the presence of AC under anoxic-flooded conditions (Figure 5e, 5f). This could statistically be proven just for the total recoveries. The lower recovery of azimsulfuron in non-sterilized soils in comparison to sterilized soils after 43 days of incubation (Figure 5e, 5f) hints to microbial degradation as an important process for the dissipation of the herbicide. This is in agreement with the results obtained by Valle et al. (2006), where microbial degradation of azimsulfuron was reported in forest soil slurry microcosms treated with 20 mg l⁻¹ of azimsulfuron after 28 days.

As it was proposed by Celis et al. (1998) and Thevenot et al. (2009), the environmental effect of compost amendments on pesticide dissipation is ambiguous: on the one hand it could enhance their retention by increasing soil organic carbon content; on the other hand, dissolved organic matter (DOM) could facilitate their transport. The lower amount of the herbicide adsorbed in the amended soils (Fig. 5c, 5d), could be related to non-ionic bounds, such as “van der Waals” and/or $\pi - \pi$ bonds, between the herbicide and the DOC from the amendment, as it has been described for other organic molecules (Keiluweit & Kleber, 2009). The highest level of azimsulfuron adsorption was observed in the non-amended and non-sterilized soil. Thereby, the higher availability of azimsulfuron detected in amended soils, has been attributed to a co-facilitated mobilization with the DOC from the amendment. This reduction in the adsorption with the amendment has been previously described for other pesticides (Delgado-Moreno et al., 2010; García-Jaramillo et al., 2014).

On the other side, the large amount of labile carbon is of particular importance as this provides a readily available carbon energy source for microbial decomposition. Soils with more labile C tend to have a higher microbial biomass. This is in good agreement with our results, where we observed that the amendment with AC increased the SMB C under oxic and anoxic conditions (Table 2). In addition, as we proposed in our hypotheses, the co-facilitated mobilization of the herbicide with the DOC could be responsible of the palliative effect caused for the amendment on the soil microbial community, especially under flooded conditions (Table 2), due to a larger amount of bioavailable organic carbon in solution.

III.5. Conclusions

The addition of compost produced a significant increase in C turnover, both under oxic and anoxic conditions. The largest reduction in the aromatic character of DOC was observed in the amended soil under anoxic-flooded conditions, indicating the preferential degradation of compost derived OM. Azimsulfuron caused a reduction of the soil microbial biomass after 43 days of incubation under anoxic-flooded conditions, evidencing a toxic effect of this herbicide on the microbial community. This effect was counterbalanced by the addition of AC. Our study reveals the positive effects of this amendment on different soil functions and even on the dissipation of the herbicide azimsulfuron under flooded-anoxic conditions.

Supporting information

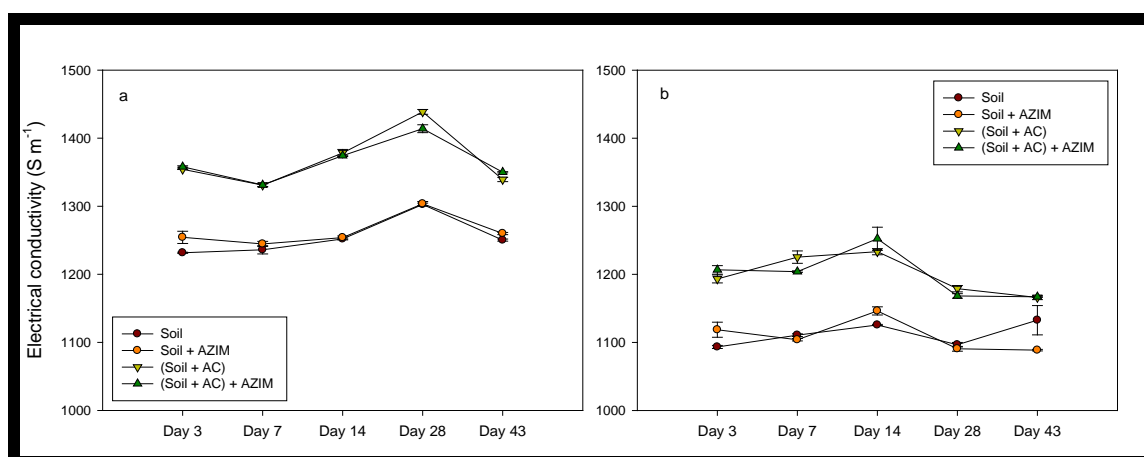


Figure S1. Electrical conductivity under oxic-unflooded (a) and anoxic-flooded (b) conditions throughout the incubation period: Soil; Soil + AZIM (soil with herbicide application); (Soil + AC) (soil with 2% of alperujo compost); (Soil + AC) + AZIM (soil with 2% of alperujo compost and herbicide application). Mean and standard error of three replicates.

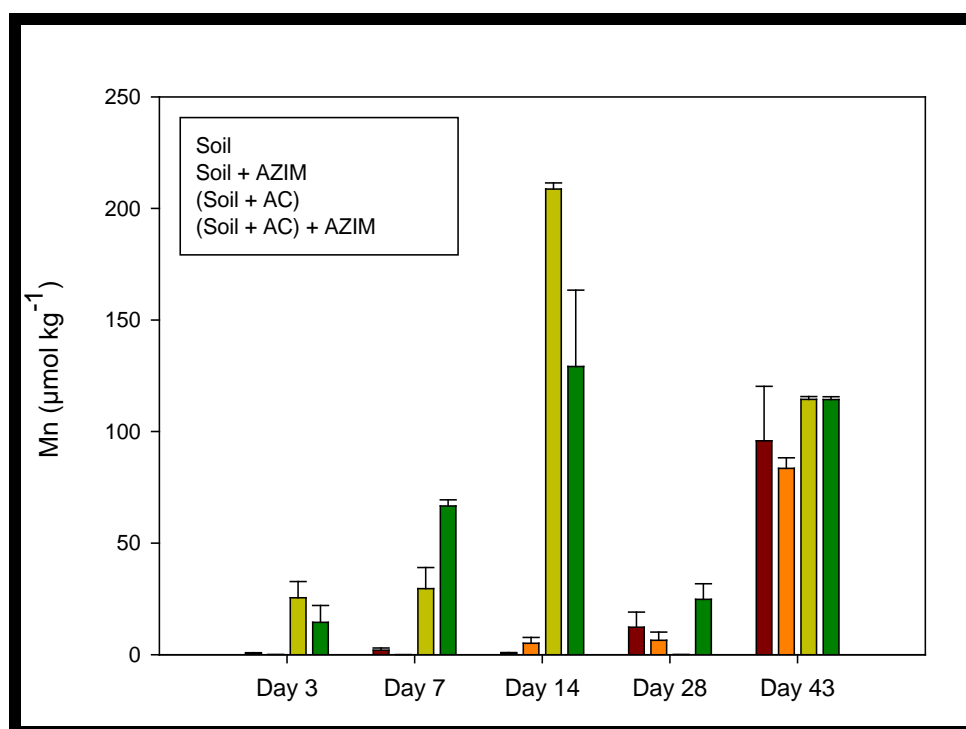


Figure S2. Manganese concentration under anoxic-flooded conditions. Soil; Soil + AZIM (soil with herbicide application); (Soil + AC) (soil with 2% of alperujo compost); (Soil + AC) + AZIM (soil with 2% of alperujo compost and herbicide application). Mean and standard error of three replicates.

CAPÍTULO IV

EFFECTS OF ALPERUJO COMPOST ON SOIL PROPERTIES, RICE GROWTH, MICROBIAL DIVERSITY AND TRICYCLAZOLE DISSIPATION UNDER PADDY FIELD CONDITIONS.



**M. García-Jaramillo, S. Redondo-Gómez, J.M. Barcia-Piedras, M. Aguilar,
V. Jurado, M.C. Hermosín and L. Cox.**

(Submitted to *Agriculture, Ecosystems and Environment*)

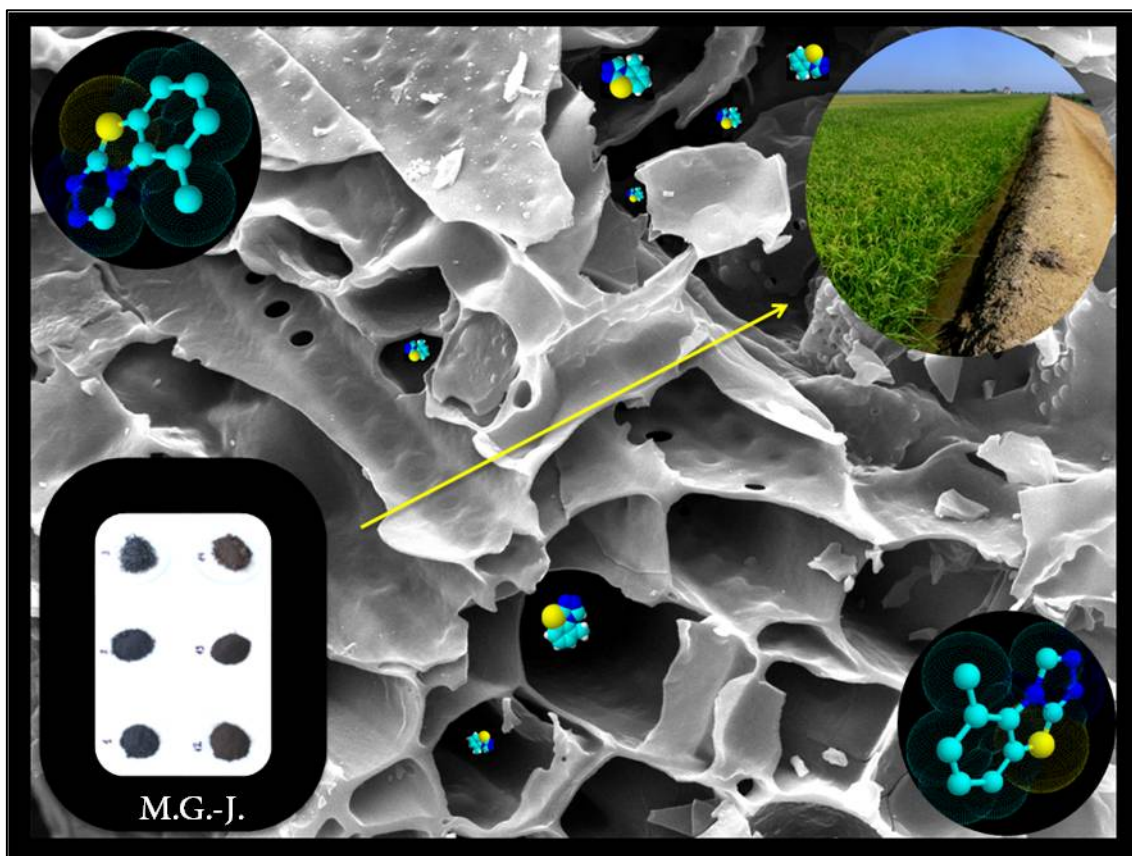
Abstract

A residue from the olive oil industry was composted and tested in paddy field conditions as soil organic amendment. A particular soil from the Guadalquivir valley was placed in open air ponds and amended at 1 or 2% (w/w) with alperujo compost (AC). An increase in the net photosynthetic rate of *Oryza sativa* plants grown in the ponds with AC was observed, and as a consequence, rice plants produced between 1,100 and 1,300 kg ha⁻¹ more rice than plants from the unamended ponds. No significant differences were observed in tricyclazole dissipation, monitored for a month in soil, surface and drainage water, between the amended and unamended ponds. The structure and diversity of bacteria and fungi communities were also studied by the use of the polymerase chain reaction denaturing gel electrophoresis (PCR-DGGE) from DNA extracted directly from soil samples. The banding pattern was similar for all treatments, although the density of bands varied throughout the time. Apparently, tricyclazole did not affect the structure and diversity of bacteria and fungi communities, and this was attributed to its low bioavailability. Rice cultivation under paddy field conditions may be more efficient under the effects of this compost, due to its positive effects on soil properties, rice yield, and soil microbial diversity.

IV.4. Conclusions

We reported several beneficial aspects derived from the amendment of soils with an agro residue under paddy field conditions. We observed positive effects on the photosynthesis rate of *Oryza sativa* plants grown in amended soils. This increment also produced an increase in the yield rate of these plants. As it was previously assumed, alperujo compost improved soil structure increasing porosity and the organic matter content, specially the DOC (readily available nutrients for plants and microorganisms). The amendment with AC did not affect rice seed germination, the predominant microbial community structure or the dissipation of tricyclazole under flooded conditions.

CHARACTERIZATION AND SELECTION OF BIOCHAR FOR AN EFFICIENT RETENTION OF TRICYCLAZOLE IN A FLOODED ALLUVIAL PADDY SOIL.



M. García-Jaramillo, L. Cox, H.E. Knicker, J. Cornejo, K.A. Spokas and M.C. Hermosín

(Published in *Journal of Hazardous Materials* 2015, 286:581–588)

Abstract

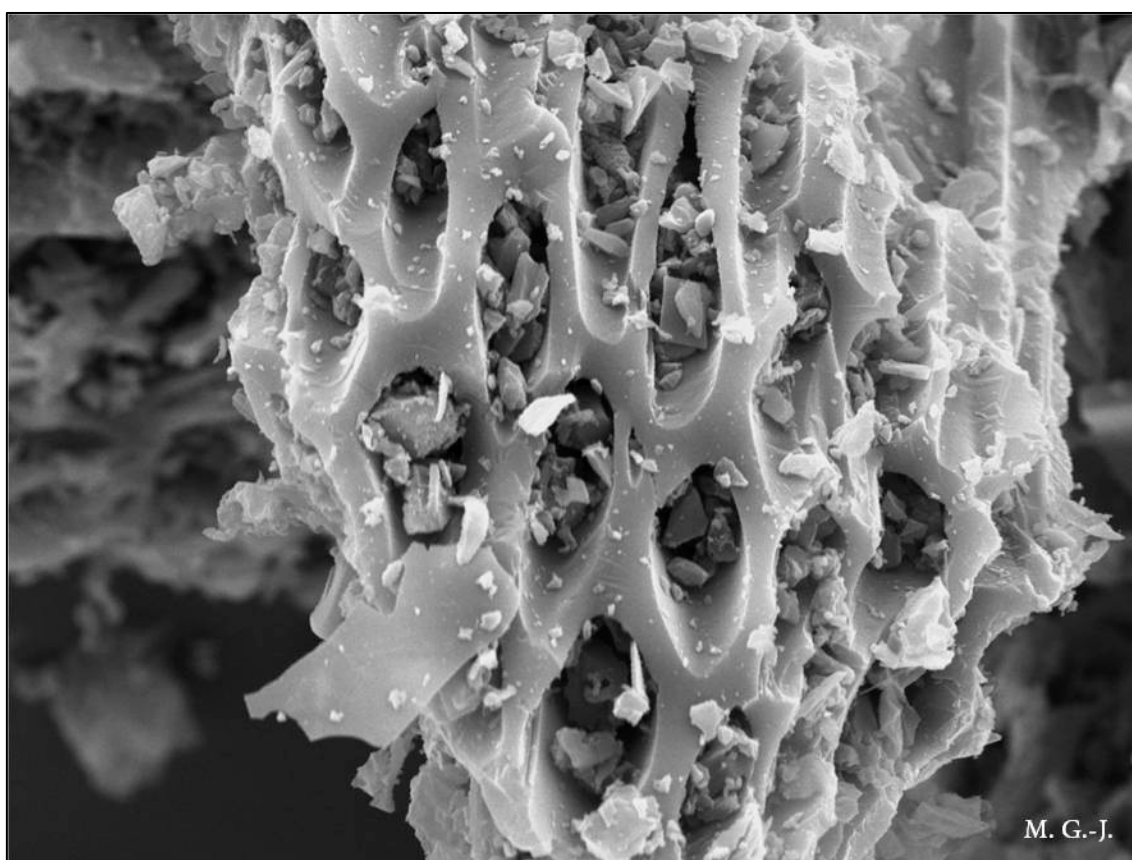
Biochars, from different organic residues, are increasingly proposed as soil amendments for their agronomic and environmental benefits. A systematic detection method that correlates biochar properties to their abilities to adsorb organic compounds is still lacking. Seven biochars obtained after pyrolysis at different temperatures and from different feedstock (alperujo compost, rice hull and woody debris), were characterized and tested to reveal potential remedial forms for pesticide capture in flooded soils. Biochar properties were determined by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, specific surface area (SSA) assessment and scanning electron microscopy. In addition, dissolved organic matter (DOM) from these biochars was extracted and quantified in order to evaluate the effect on pesticide sorption. The biochars from alperujo compost presented very high affinity to the fungicide tricyclazole (55.9, 83.5 and 90.3% for B1, B4 and B5, respectively). This affinity was positively correlated with the pyrolysis temperature, the pH, the increased SSA of the biochars, and the enhanced aromaticity. Sorptive capacities were negatively related to DOM contents. The amendment with a mixture of compost and biochar endows the alluvial soil with high sorptive properties (from $K_{f\ ads(soil)} = 9.26$ to $K_{f\ ads(mixture)} = 17.89$) without impeding the slow release of tricyclazole.

V.4. Conclusions

This study provides direct experimental evidence of the effectiveness of the selected biochars in the retention of tricyclazole in a water saturated soil. Particular biochar amendments could be beneficial for the remediation of polluted soils or for the prevention of tricyclazole leaching in paddy field conditions, but would also entail a reduction of the efficacy of the applied pesticide. These results also stress the importance of proper screening of biochar characteristics before application. Based on adsorption-desorption data, we recommend the use of a mixture of alperujo compost and biochar produced from the same compost at 550 °C for optimal efficiency of tricyclazole, while minimizing the risk of contamination of superficial and ground-water under flooded conditions.

CAPÍTULO VI

**EFFECTS OF BIOCHAR ADDITION ON THE SORPTION OF AZIMSULFURON AND
PENOX SULAM IN PADDY SOILS.**



M. García-Jaramillo, L. Cox, M.C. Hermosín, J.R. Parsons, R. Helmus and K. Kalbitz

(Manuscript in preparation)

ABSTRACT

The global concern about soil quality and C sequestration has conducted the research on different options for soil organic amendment. Biochars produced from biomass waste are increasingly proposed for their agronomic and environmental benefits as soil amendments. There are still many questions about the effects of these practices on pesticide dynamic in agricultural soils. The aim of this work was to investigate the adsorption – desorption of azimsulfuron and penoxsulam in two paddy soils, as affected by the amendment with a biochar obtained from an agro-residue of the olive oil industry. Sorption on biochar was assessed before and after removing the 80% of its water extractable substances, separately and in combination with each soil (at 2 and 5% w/w). Hybrid quadrupole mass spectrometry made possible to compare qualitatively the aromatic condensation of the biochar water extractable substances from the biochar before and after the washing treatment. Biochar had a very different effect on the sorptive properties of each soil, and this was related to the interaction among the biochar water extractable substances and the organic and mineral fractions of the soils.

VI.1. INTRODUCTION

Biochars, produced as soil amendment for agricultural and environmental profits, are receiving increased worldwide attention to combat climate change, and at the same time to achieve agricultural and environmental benefits (Spokas et al., 2009). The recent approaches for biochar production are using advanced biomass pyrolysis with reduced emissions to produce biochar suitable for soil amendments, biosyngas and biofuels (Lehman and Joseph, 2009). That biochar produced from a waste biomass is recognized as a sustainable alternative as soil amendment to improve C sequestration in agricultural soils (Lehman et al., 2011). The large potential of biochars to retain synthetic organic compounds, such as pesticides, and prevent the potential risk of contamination of ground and surface water has been extensively described (Yang Y., et al., 2003; Cornelissen, et al., 2005). This property of biochar is the reason why activated carbon – a form of high temperature biochar that has been treated with steam or CO₂ to remove tars and maximize porosity – has been used to remove organic compounds from polluted air and water (Dias et al., 2007). A prerequisite for the application of biochar in order to retain pesticides in agricultural soils is a high pesticide sorption capacity, sustained over a long period of time, especially when exposed to changing environmental conditions (Hale et al., 2011). The adsorption of pesticides on the soil particles determines their concentration in the soil solution, and therefore their degradation and transport in the environment (Gevao et al., 2000). The adsorption to amended soils will be influenced by the molecular structure of the pesticide and by physical and chemical properties of the biochar and the soil (Sun et

al., 2012). Additionally, adsorption will be strongly dependent on the dissolved organic matter (DOM) content from the soil and from the amendment (Kah and Brown, 2007; Cabrera et al., 2014).

Improvements in purification methods and analytical technology (for example NMR spectroscopy, mass spectrometry and X-ray spectroscopic methods), have greatly enhanced the possibility of measuring and characterizing the DOM (Nebbioso, 2013), facilitating the study of DOM-pesticide molecules interaction. The hybrid quadrupole-TOF (Q-TOF) mass spectrometer (MS) has been used to elucidate unknown compounds present in different mixtures of organic matter (OM), such as environmental waters (Ibáñez et al., 2005). In this work we applied this technique to identify single organic compounds in the water extractable substances extracted from the biochar, before and after the washing treatment, in order to elucidate interaction mechanisms with pesticide molecules.

Azimsulfuron is a post emergence sulfonylurea widely used in the weed control of rice fields. Its mechanism of action is based on the inhibition of acetolactate synthase, blocking the amino acid biosynthesis in plants and micro-organisms (Brown, 1990). Because of its high water solubility and persistence, the potential impact of azimsulfuron on surface water and groundwater is of great concern (Brusa et al., 2001; Kim et al., 2003). Also, adverse effects of azimsulfuron on the soil bacterial communities have been previously described (Valle et al. 2006). Penoxsulam is a sulfonamide herbicide intended for post emergence control of annual grasses, sedges, and broadleaf weeds in rice crops (Roberts D. et al., 2003). Penoxsulam is a water soluble pesticide that is hydrolytically stable, nonvolatile, and sorbs only weakly to non-acidic soils and moderately to acidic soils (Tomlin, 2006). Therefore, degradation rates and water-holding periods are expected to control dissipation rates of penoxsulam in the rice field environment.

The major objectives of this study were to investigate the impact of biochar and biochar water extractable substances (BWES) in the sorption behavior of azimsulfuron and penoxsulam in two biochar amended and unamended paddy soils under flooded conditions. By comparison of the adsorption - desorption behavior of these herbicides, with different chemical structure, we tried to better understand and predict their fate and bioavailability and therefore prevent the potential risk of contamination of the drainage and surface water by the amendment with biochar.

VI.2. MATERIALS AND METHODS

VI.2.1. Soils and biochars

Two paddy soils, collected in 2008 from an area located around Cixi (30° 10'N, 121° 14'E), approximately 180 km South of Shanghai and 150 km East of Hangzhou, were used in this study. Soils had been cultivated and cropped in the same way

(flooded for 3–4 months each year) during the last 100 and 700 years. We named them P100 and P700, respectively. These soils were used in a previous study (Hanke et al., 2013) as part of a chronosequence of paddy soil development. There we can find more details about the sampling methodology used to collect them.

The biochar used (BC) was obtained from a previously composted agro residue, alperujo compost (AC). Compost was produced in IFAPA Centro Venta del Llano, Jaén (Spain). BC was obtained through pyrolysis at 500°C during 2h under a restricted oxygen atmosphere. To obtain a washed version of the biochar (BCW) and investigate the effect of BWES on the sorption process of azimsulfuron and penoxsulam, BC was washed with 0.1 M HCl on a glass beakers, followed by flushing ionized water (CaCl_2 0.01 M) until neutral pH, subsequently oven-dried at 105°C, and gently milled to pass a 0.25 mm sieve (Sun et al., 2013). A 0.1 M HCl was selected to wash the biochar in order to decrease its pH and also remove some nutrients, ions, carbonates, and most part of the BWES, simulating the state of a biochar after a period under flooded conditions in an acidic soil.

Soils (P100 and P700), air-dried and sieved through a 2 mm mesh, were amended at a rate of 2 and 5 % (w/w) with BC and BCW.

VI.2.2. Herbicides

Analytical grade (≥ 97 % purity) azimsulfuron (CAS RN 120162-55-2) and penoxsulam (CAS RN 219714-96-2) were supplied by Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany). Molecular structures of both compounds are given in Fig. 1. These compounds were used to prepare the initial pesticide solutions used as external standards for pesticide analysis, and to carry out all of the experimental assays. Water solubilities of the pesticides were 1050 and 408 mg l^{-1} (20°C and pH 7), and $\text{pK}_a = 3.6$ and 5.1, for azimsulfuron and penoxsulam, respectively (Tomlin, 2006). The groundwater ubiquity scores (GUS) leaching potential index, as described by Gustafson (1989), are 3.91 for azimsulfuron and 3.05 for penoxsulam (Tomlin, 2006).

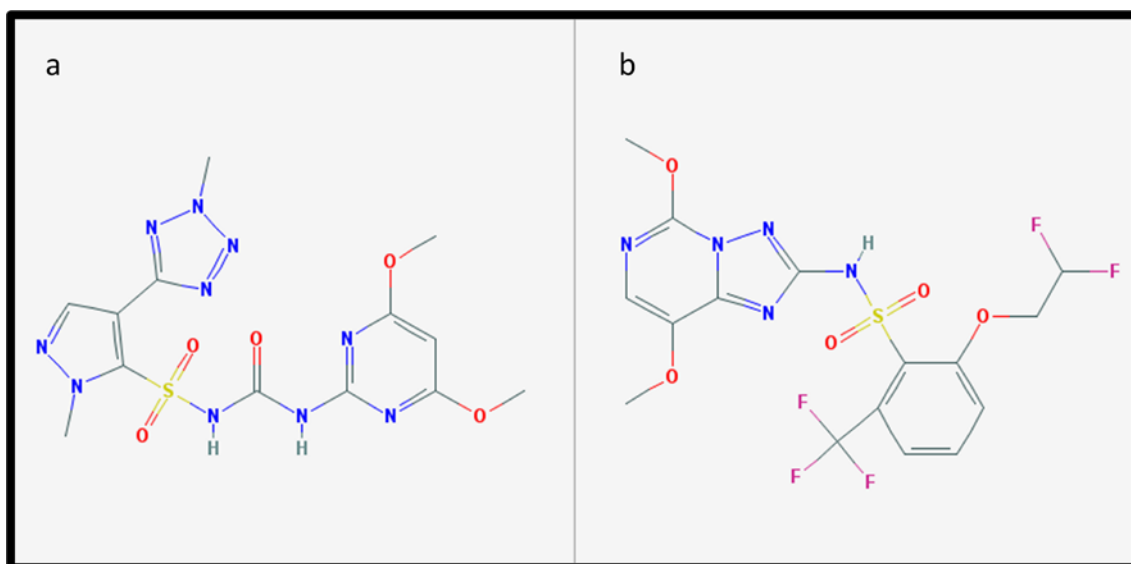


Fig. 1. Molecular structures of azimsulfuron (a) and penoxsulam (b).

VI.2.3. Physical and chemical analysis of soils and biochars

Soils were air-dried and sieved to <2 mm. Bulk density (BD) was calculated by dividing the mass of oven-dried soil (at 105°C) by the core volume (100 cm³). Particle-size distribution of the <2 mm fraction was determined after dissolution of carbonates with HCl and removal of organic matter with H₂O₂. The sand content was obtained by wet sieving with a >63 µm sieve, and silt and clay contents were determined by sedimentation rate and X-ray absorption (Sedigraph 5100, Micromeritics GmbH, Aachen, Germany). Organic carbon (OC) was determined in a Vario EL Elemental Analyzer (Hanau, Germany). Soils were classified according to the World Reference Base for Soil Resources (WRB, 2006). Soil pH was determined in 1 M KCl at a soil:solution ratio of 1:2.5.

The elemental composition (C, H, and N) of the biochar, before (BC) and after the washing treatment (BCW), was analyzed by a high-temperature combustion method (Elementar Vario EL, Hanau, Germany). The pH was measured in a 1:5 (w/v) biochar/deionized water mixture. Dissolved organic carbon (DOC) from the biochar (before and after the washing treatment), soils and amended soils was obtained by aqueous extraction with deionized water and determined with a total organic carbon analyzer (TOC-V_{CPH}, Shimadzu, Kyoto, Japan). The extraction ratio was 1:5 (soil:solution), by adding 30 ml of H₂O to 6g of amended and unamended soils, and 1:20 (biochar:solution), by adding 20 ml of Nanopure H₂O to 1g of biochar. Suspensions were shaken at 20 ± 2°C for 24 h, centrifuged at 3,500 rpm for 20 min, and

then filtered through pre-rinsed 0.45 μm cellulose-acetate filters (Zhao et al., 2008). Samples were and kept at 4°C till analysis.

Specific UV absorbance of those DOC extracts of soils and amended soils was measured, at 280 nm (UV280), using a Spectroquant Pharo 300 spectrometer (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

VI.2.4. Mass spectrometry instrumentation and analysis

Samples of the BWES of BC and BCW were diluted (100 and 10 times, respectively) with methanol for analysis by high resolution mass spectrometry. Samples were infused directly into and measured with an ESI source using a spray voltage of 3.5 kV in negative ionization mode. Data were collected in the mass range of 50 – 1000 m/z at a rate of 0.5 Hz and 75 scans were averaged together using Bruker Compass 1.7 DataAnalysis software. The infusion analyses were split into three segments. During the first segment (0 – 1 min) a mass calibration solution (2 mM sodium acetate in 1:1 H₂O/isopropanol solution) was infused for later re-calibration of the data. The second segment (1 – 6 min) was specifically optimized to measure compounds with low m/z , while the third segment (6 – 11 min) was used to measure compounds with high m/z . Chemical formula for every mass spectrum were predicted using the SmartFormula feature and then exported to Microsoft Excel for further processing.

VI.2.5. Adsorption – desorption experiments

Azimsulfuron and penoxsulam adsorption to BC and BCW was studied using a batch equilibration technique. Based on our preliminary experiments, the sorbent's dosages were adjusted to allow for 20 % – 80 % of the added pesticide to be adsorbed at equilibrium. We studied concentrations from 0.05 to 2 mg l⁻¹, in a ratio 0.1:20 (w/v) for BC and 0.5:20 (biochar:solution) for BCW. The amount of fungicide adsorbed to the biochars was calculated from the difference between the initial (C_i) and the equilibrium (C_e) solution concentrations. Pesticide solutions were prepared in 0.01 M CaCl₂. Suspensions were shaken at 20 \pm 2°C for 24 h and centrifuged at 3,500 rpm for 15 min. According to our preliminary sorption rate and equilibrium studies, it was determined that equilibrium was reached after 16–18 h of biochar-solution contact, and that no measurable degradation occurred during this period. The uptake to the walls of centrifuge tubes was negligible. Supernatants were filtered and equilibrium concentrations C_e determined by HPLC as described below.

Adsorption of azimsulfuron and penoxsulam to amended and unamended soils were measured using the same batch equilibration method. Duplicate samples (1.0 g) of unamended and amended soils (with 2 and 5 % w/w BC or BCW) were treated with 2 ml of azimsulfuron and penoxsulam solutions with initial concentrations (C_i) ranging

from 0.05 to 1 mg l⁻¹. Desorption was carried out after adsorption using the highest C_i (1 mg l⁻¹) by replacing half of the supernatant with 0.01 M CaCl₂. This cycle was repeated 3 times (24 h each one) for each sample.

Adsorption and desorption isotherms were fitted to the Freundlich equation, expressed by the following equation:

$$C_s = K_f C_e^{\eta_f} \quad (1)$$

where the constants K_f and η_f indicate the adsorption affinity, evaluated at $C_e = 1 \text{ mg l}^{-1}$ and the adsorption intensity, respectively.

VI.2.6. Herbicides analysis

Azimsulfuron and penoxsulam were analyzed using a Prominence HP-CL System coupled to a diode-array detector (Shimadzu, Kyoto, Japan). The separation was achieved with a Phenomenex® Lichrosphere 5 RP-18, 125x4 mm, equipped with a C18 pre-column. The injection volume was of 25 µl. The mobile phase was a mixture of acetic acid (0.05%) and acetonitrile (65:35) at a flow rate of 1 ml min⁻¹ under isocratic conditions and the wavelengths monitored for UV detection were 242 nm for azimsulfuron and 230 nm for penoxsulam. External calibration curves were obtained analyzing standard solutions in ultrapure water at concentrations ranging from 0.01 mg L⁻¹ to 2 mg L⁻¹. A very high linearity ($P_{\text{value}} < 0.0001$) was always obtained. Quantification was based on chromatographic peak areas. Limits of detection (LoD) and quantification (LoQ) were assessed observing the signal to noise ratio (S/N) and considering LoD as the concentration with S/N=3 and LoQ as the concentration with S/N=10. LoD values were around 0.001 mg L⁻¹ for this pesticide. The values of LoQ were always around 0.005 mg L⁻¹.

VI.3. RESULTS

VI.3.1. Characterization of soils, biochar and amended soils

Basic properties of sampled soil horizons are shown in Table 1. Soils were classified as Gleyic Cambisol (P100) and Endogleyic Stagnosol (P700). The pH value of P100 was lower (0.7 units) than P700. Also the OC content of p100 (17.6 mg g soil⁻¹) was significantly lower than P700 (20.5 mg g soil⁻¹). Physical and chemical properties of the biochars used are shown in Table 2. If we compare BC and BCW, the amount of BWES was approximately 5 times lower after the washing treatment. DOC content was reduced from 2820.2 mg L⁻¹ to 544.8 mg L⁻¹. The pH value of the biochar extract was 2 units lower (from 9.4 to 7.3) after the washing treatment. The C and N content (%) were also reduced with the washing treatment.

Table 1. Basic properties of sampled soil horizons. Mean and standard error of two replicates.

Soil	Cultivation Time (years)	Horizon description	Depth (cm)	Soil pH	Texture	Soil OC (mg g soil ⁻¹)	DOC (mg L ⁻¹)
P100	100	Alp	0 - 15	6.2 ± 0.2	Silt loam	17.6 ± 1.3	86.2 ± 1.9
P700	700	Alp	0 - 16	6.9 ± 0.1	Silt loam	20.5 ± 1.9	63.5 ± 0.2

Horizon suffixes: A=mineral surface horizon, l=capillary fringe mottling, p=disturbed by plugging.

Table 2. Physical and chemical properties of BC (biochar made from alperujo compost at 500 °C) and BCW (biochar of alperujo compost yield to a washing treatment, as it is described in the materials and methods section). Ash content was evaluated at 950 °C. Mean and standard error of two replicates.

Biochar	pH (1:5)	Ash (mg g ⁻¹)	C (%)	N (%)	C/N	C/H	DOC (mg L ⁻¹)	BWES (%)
BC	9.4 ± 0.1	446.7 ± 9.1	27.9	2.1	12.6 ± 0.2	12.3 ± 0.2	2,820.2 ± 50.9	5.6
BCW	7.3 ± 0.1	431.9 ± 2.2	26.3	1.9	13.3 ± 0.3	12.5 ± 0.7	544.8 ± 15.3	1.1

The aromatic character of the DOC-extracts of the unamended and amended soils, based on the specific UV absorbance at 280 nm (SUVA₂₈₀), was increased with the amendment in all the conditions tested (Fig. 2). That increment was proportional to the dose of biochar added to the soil. The aromaticity was slightly higher in P700 than in P100, and these differences were larger in amended soils. The pH values of the unamended and amended soils are also shown in Fig. 2.

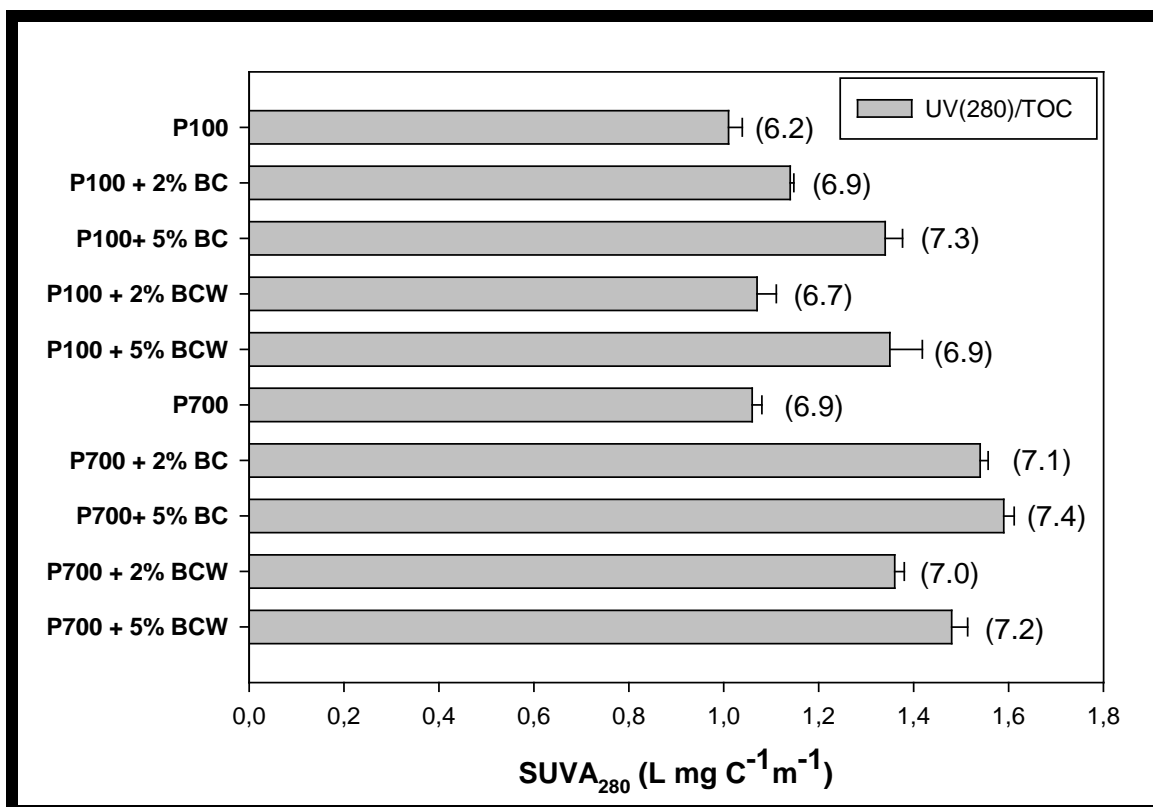


Figure 2. Specific UV absorbance ($\text{L mg C}^{-1} \text{m}^{-1}$) at 280nm and pH measurements (values in brackets) of the amended and unamended soils. Mean and standard error of two replicates. The error in the pH measurements was always lower than 0.1.

VI.3.2. BWES characterization with mass spectrometry

In Fig. 3 we can observe the Van Krevelen diagrams for the molecular formulas assigned to mass spectral peaks in the BWES from BC and BCW. If we compare the relative amount of molecules with and without N, in the low and high mass range, we can observe a similar degree of aromatic condensation in both extracts. After the washing treatment, the relative amount of molecules containing N found in the BWES from the low mass range was decreased, as it can be observed in Fig. 3. However, we did not find these differences in the relative amount of molecules containing N in the high mass range. As it was expected, the washing treatment removed most part of the polar components from the BWES.

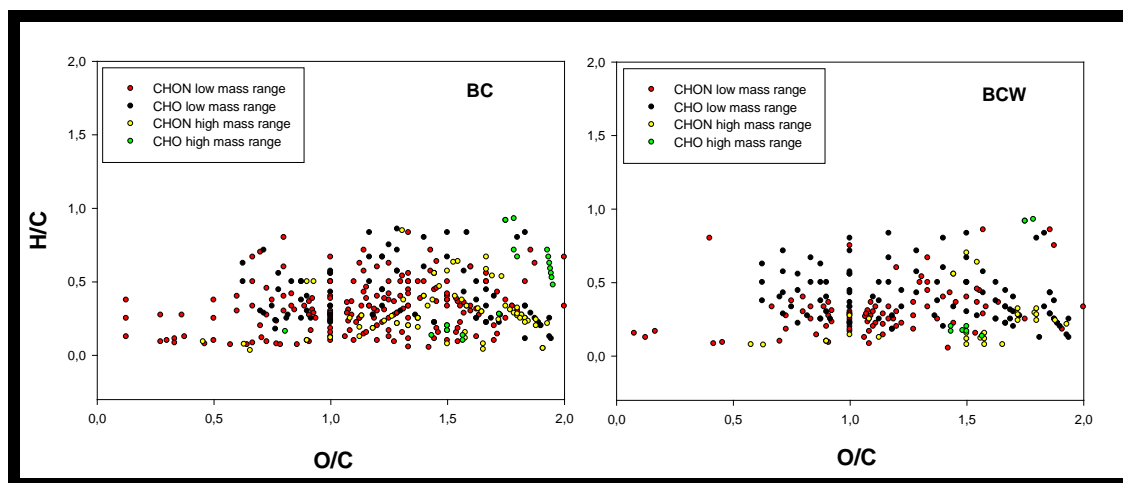


Figure 3. Van Krevelen diagrams (colored according to heteroatom content) for the molecular formulas assigned to mass spectral peaks in derived biochar water-extractable substances (BWES) from BC and BCW.

VI.3.3. Adsorption and desorption experiments.

Azimsulfuron

Sorption data fitted very well to the Freundlich equation (Eq. (1)), with R^2 values from 0.95 to 0.99. In P100 azimsulfuron was sorbed to a lesser extent on soils amended with BC and BCW at a dose of 2% (w/w), and to a larger extent on soils amended with the biochars at a dose of 5% (w/w) (Table 3, Fig. 4). However, the same amendments had a different effect on P700, where the sorptive capacities of the soil were progressively enhanced with the amount of biochar added to the soil. The highest sorption was observed in P700 amended at a dose of 5% with BC or BCW, with K_f values of 1.51 in both cases (Table 3). The η_f values of Freundlich model increased significantly in the presence of BC and BCW, at the two assayed doses (Table 3).

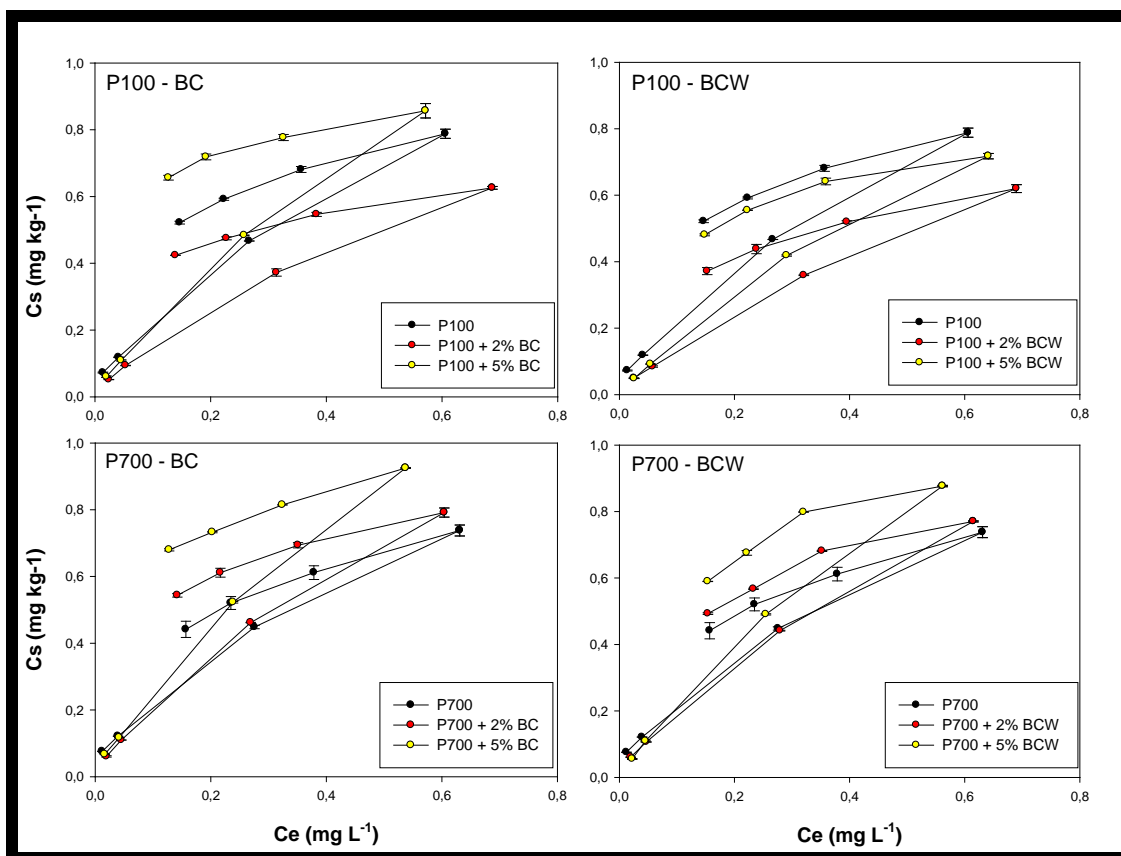


Figure 4. Isotherms of azimsulfuron adsorption - desorption to P100 and P700, without amendment and amended with BC and BCW. Mean and standard error of two replicates.

Desorption of azimsulfuron was assessed on the soil samples initially treated with 1 mg l^{-1} azimsulfuron solution. Hysteresis coefficients ($H = \eta_{f \text{ des}} / \eta_{f \text{ ads}}$) were also calculated. Desorption of azimsulfuron was less hysteretic in the unamended soils (H values among 0.45 and 0.62, for P100 and P700, respectively) than in the amended ones (Fig. 4, Table 3). For the biochar amended soils, the amount of azimsulfuron desorbed at each of the three desorption stages decreased when the soil was amended with BC or BCW at a dose of 2% (w/w) and when the soil was amended with BCW at a dose of 5% (w/w). However, the amount of azimsulfuron desorbed increased when the soil was amended with BC at a dose of 5% (Table 3).

Table 3. Azimsulfuron adsorption-desorption coefficients: K_f ($\text{mg}^{1-n_f} \text{L}^{n_f} \text{kg}^{-1}$) and η_f , and R^2 values; and the hysteresis coefficient ($H = \eta_f \text{ des} / \eta_f \text{ ads}$). Values not measured (n.m.). Mean and standard error of two replicates.

Samples	$K_f \text{ ads}$	R^2	$\eta_f \text{ ads}$	$K_{d0.5}$	$K_f \text{ des}$	R^2	$\eta_f \text{ des}$	H
P100	1.07 [0.97 – 1.19]	0.99	0.65 ± 0.04	1.37	0.92 [0.91 – 0.92]	0.99	0.29 ± 0.00	0.45
P100 + BC (2%)	0.86 [0.83 – 0.88]	0.99	0.75 ± 0.01	1.02	0.69 [0.68 – 0.69]	0.99	0.25 ± 0.01	0.33
P100 + BC (5%)	1.37 [1.30 – 1.45]	0.99	0.80 ± 0.02	1.57	0.95 [0.93 – 0.96]	0.99	0.17 ± 0.01	0.22
P100 + BCW (2%)	0.84 [0.79 – 0.89]	0.99	0.78 ± 0.03	0.98	0.71 [0.70 – 0.71]	0.99	0.34 ± 0.01	0.43
P100 + BCW (5%)	1.11 [1.04 – 1.18]	0.99	0.85 ± 0.03	1.23	0.83 [0.80 – 0.86]	0.98	0.27 ± 0.03	0.32
P700	0.95 [0.85 – 1.05]	0.99	0.592 ± 0.04	1.25	0.87 [0.87 – 0.88]	0.99	0.37 ± 0.01	0.62
P700 + BC (2%)	1.25 [1.15 – 1.25]	0.99	0.761 ± 0.02	1.47	0.91 [0.89 – 0.91]	0.99	0.26 ± 0.01	0.34
P700 + BC (5%)	1.51 [1.38 – 1.65]	0.99	0.773 ± 0.03	1.77	1.05 [1.03 – 1.07]	0.99	0.22 ± 0.01	0.28
P700 + BCW (2%)	1.12 [1.06 – 1.17]	0.99	0.748 ± 0.02	1.33	0.92 [0.89 – 0.97]	0.98	0.33 ± 0.03	0.44
P700 + BCW (5%)	1.51 [1.42 – 1.60]	0.99	0.857 ± 0.02	1.66	1.08 [1.01 – 1.15]	0.96	0.31 ± 0.05	0.36
BC	60.20 [47.52 – 76.26]	0.95	0.931 ± 0.12	63.15	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BCW	24.17 [18.70 – 31.24]	0.95	0.801 ± 0.11	27.75	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.

Penoxsulam

Adsorption – desorption coefficients calculated for both herbicides are shown in Table 4. The adsorption of penoxsulam was very low in comparison with azimsulfuron. Adsorption data obtained for the amended and unamended soils fitted very well to the Freundlich equation (Eq. (1)), with R^2 values from 0.92 to 0.99 (Table 4). The amendments had very different adsorptive effects on each soil (Fig. 5). In P100, the herbicide was adsorbed to a much lesser extent on soils amended with BC and BCW than in unamended soils, especially at a dose of 2% (w/w), with K_f values reduced from 1.49 to 0.69 and 0.74 for BC and BCW, respectively (Table 4). The η_f values of Freundlich model calculated for the adsorption of penoxsulam to P100, were decreased or not modified with the amendments, except for the soil amended with BCW at a dose of 2%(w/w), where we observed an increase from 1.13 to 1.40. In P700, the η_f values of the penoxsulam isotherms calculated for the amended soils were very similar to the unamended ones (Table 4).

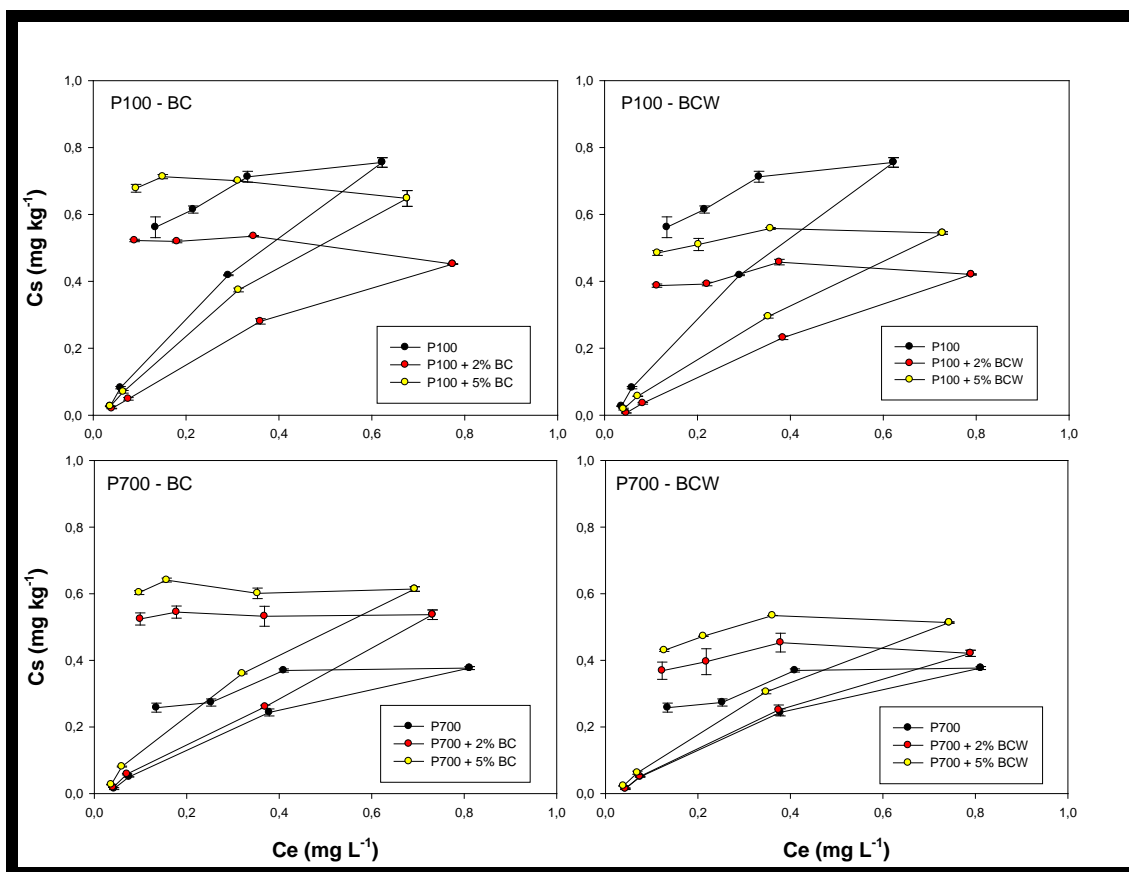


Figure 5. Isotherms of penoxsulam adsorption - desorption to P100 and P700, without amendment and amended with BC and BCW. Mean and standard error of two replicates.

Desorption of penoxsulam was assessed on the soil samples initially treated with 1 mg l^{-1} penoxsulam solution. In P100, the amount of penoxsulam desorbed at each of the three desorption stages decreased in all the amended soils (Table 4, Fig. 5). In P700, the amount of penoxsulam desorbed increased, especially when the soil was amended with BC or BCW at a dose of 2% (w/w) (Table 4). Hysteresis coefficients were reduced significantly, to values near zero, in all the amended soils.

Table 4. Penoxsulam adsorption-desorption coefficients: K_f ($\text{mg}^{1-n_f} \text{L}^{n_f} \text{kg}^{-1}$) and η_f , and R^2 values; and the hysteresis coefficient ($H = \eta_f \text{ des} / \eta_f \text{ ads}$). Values not measured (n.m.). Mean and standard error of two replicates.

Samples	$K_f \text{ ads}$	R^2	$\eta_f \text{ ads}$	$K_{d0.5}$	$K_f \text{ des}$	R^2	$\eta_f \text{ des}$	H
P100	1.49 [1.09 – 2.03]	0.97	1.13 ± 0.14	1.36	0.85 [0.81 – 0.89]	0.95	0.20 ± 0.03	0.18
P100 + BC (2%)	0.69 [0.58 – 0.83]	0.99	1.07 ± 0.09	0.66	0.47 [0.44 – 0.50]	0.51	0.06 ± 0.04	0.06
P100 + BC (5%)	1.14 [0.92 – 1.42]	0.98	1.09 ± 0.10	1.08	0.66 [0.63 – 0.69]	0.31	0.03 ± 0.02	0.03
P100 + BCW (2%)	0.74 [0.48 – 1.14]	0.96	1.40 ± 0.22	0.56	0.44 [0.41 – 0.48]	0.40	0.06 ± 0.05	0.04
P100 + BCW (5%)	0.88 [0.69 – 1.13]	0.98	1.14 ± 0.12	0.80	0.57 [0.55 – 0.59]	0.74	0.070 ± 0.03	0.06
P700	0.57 [0.42 – 0.79]	0.96	1.07 ± 0.15	0.55	0.41 [0.37 – 0.45]	0.84	0.24 ± 0.08	0.22
P700 + BC (2%)	0.79 [0.62 – 1.02]	0.98	1.09 ± 0.12	0.74	0.54 [0.53 – 0.55]	0.12	0.01 ± 0.01	0.01
P700 + BC (5%)	1.02 [0.75 – 1.39]	0.96	1.01 ± 0.14	1.01	0.61 [0.59 – 0.63]	0.03	0.01 ± 0.02	0.01
P700 + BCW (2%)	0.65 [0.47 – 0.90]	0.96	1.11 ± 0.16	0.60	0.45 [0.42 – 0.49]	0.55	0.08 ± 0.05	0.07
P700 + BCW (5%)	0.80 [0.64 – 0.99]	0.98	1.03 ± 0.10	0.78	0.55 [0.52 – 0.59]	0.70	0.11 ± 0.05	0.10
BC	9.56 [7.30 – 12.52]	0.92	0.92 ± 0.16	10.09	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BCW	8.01 [6.58 – 9.73]	0.95	0.87 ± 0.11	8.79	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.

VI.4. DISCUSSION

The highest sorption affinity of azimsulfuron was observed for the soils amended at the maximum dose of BC. The OM content generally promotes the adsorption of ionizable pesticides in soils (Kah and Brown, 2007). In all cases the isotherms were nonlinear, with slopes (η_f) different from unity. All η_f values were <1 , resembling L-type isotherms (Giles et al., 1960). An L-type curve indicates a relatively high azimsulfuron-soil affinity at low concentration; that is, the extent of sorption decreases as the herbicide concentration increases, because it becomes increasingly more difficult for azimsulfuron to find vacant adsorption sites. Therefore, the dependence of sorption on initial solution concentration is progressively increased with increasing content of biochar in the soil and increasing content of BWES. The higher azimsulfuron adsorption to BC than to BCW revealed the important role of the BWES removed (more than the 80 % of the total) during the washing treatment (Table 2) in the sorption process. The increasing values of Freundlich sorption coefficient K_f with the biochar amendment indicated that the adsorption of azimsulfuron to P700 progressively increased with increasing content of biochar in the soil. Pusino et al. (2004) studied the sorption behavior of azimsulfuron on five different soils. They also observed the highest K_f value in the soil with the greatest amount of organic matter. Additionally, they found a

significant negative correlation between $K_{f\ ads}$ and pH, indicating that the extent of adsorption increases as the pH decreases, following the general trend observed for sulfonylureas and weakly acidic herbicides (Hay et al., 1990). Also Pinna et al. (2007) observed that the sorption of azimsulfuron on soil was largely influenced by pH and OM content. Due to the presence of an abundance of acidic groups in the BWES, its coating on the carbon surfaces of the biochar can increase the surface acidity and hence increase pH influence on the adsorption of dissociable pesticides (Qiu et al., 2009). It is interesting to note that these two soils are characterized not only by a fairly high amount of organic matter (Table 1), also by high clay and oxalate extractable iron content (Hanke et al., 2013). The contribution of smectite clay minerals and iron oxides to the sorption of sulfonylureas has been reported several times (Calamai et al., 1997; Pusino et al., 2000). That could explain the different adsorptive effects that biochars had on each soil.

Penoxsulam exhibited a very low adsorption to both biochars. As it was observed with azimsulfuron, the amendments had the opposite effect on each soil. In P100 the adsorption to the soil was decreased with biochar applications, especially with the minimum dose of 2 % (w/w). In contrast, penoxsulam exhibited a completely different behavior in P700. Its sorptive capacities were progressively enhanced with the amount of biochar added to the soil. The same behavior, but in a higher extent, was reported by Jabusch and Tjeerdema (2005), with soils amended with manure compost, where the sorption of penoxsulam was mainly regulated for the soil organic matter content and clay mineral sorption sites. In all cases, η_f values of Freundlich model were higher than 1. According to Giles et al. (1960), a slope higher than 1 indicates that pesticide and water molecules are in competition for sorption sites. The dependence of penoxsulam sorption on initial solution concentration observed was not related with the content of biochar in the soil. Results are also in accordance with these obtained by Alister et al. (2011), where the adsorption of penoxsulam was specifically related to pH, and not to the organic matter content. Desorption of penoxsulam was hysteretic ($\eta_{f\ des} < \eta_{f\ ads}$) for all the conditions tested. According to Koskinen et al. (2006) it means that the small fraction of pesticide adsorbed will not be easily desorbed. Therefore, desorption cannot be accurately predicted from the isotherms. It is in good agreement with the very low R^2 values of the Freundlich equation obtained for desorption of penoxsulam in the amended soils.

In soils, at pH values greater than their pKa, weak acids exist predominantly in the anionic form. With decreasing pH, the proportion of the protonated fraction increases (Beyer et al., 1988). This neutral form is much more strongly sorbed in soils than the anion for several reasons (Kah and Brown, 2007): the hydrophobicity of the neutral form is greater than that of the anionic form (Lee et al., 1990); in variable-charge soils (mainly soils with significant quantities of iron and aluminum hydroxides), the anionic-exchange capacity increases at lower pH values. Thus, while pH decreases, sorption of the anion increases by ionic interactions (Hyun et al. 2003).

VI.5. CONCLUSIONS

Biochars modified substantially the sorptive properties of each soil for azimsulfuron and penoxsulam. Their adsorption-desorption was mainly related to the own mineral composition of the soils, to the amount of biochar added, and to the concentration and quality of BWES (as the relative amount of humic substances, represented by condensed aromatics), which could be related with the time elapsed from the application of biochar to the soil. The most polar components (molecules containing N in the low mass range) from BWES were related with some of the differences found in the sorption process of these herbicides. This study provides experimental evidence of the relation between BWES and the sorption behavior of azimsulfuron and penoxsulam under paddy field conditions. Results stress the importance of proper screening of biochar and soil characteristics before application of these herbicides, since biochar can largely enhance their adsorption or, on the contrary, reduce it based on soil properties.

CAPÍTULO VII

VII.1. DISCUSIÓN GENERAL

VII.1.1. Efectos agronómicos del compost de alperujo bajo condiciones de inundación.

VII.1.1.1. Efecto sobre las propiedades del suelo.

Como es sabido, los cambios producidos por cualquier enmienda sobre las propiedades de un suelo dependerán en general tanto de la enmienda aplicada como del tipo de suelo, siendo los elementos más relevantes la materia orgánica aportada con la enmienda, la naturaleza de los componentes coloidales con los que pueda interactuar y el aporte de agua que se produzca (en cantidad y frecuencia). El trabajo desarrollado en el *Capítulo IV* describe como la enmienda con compost de alperujo altera algunas de las propiedades superficiales del suelo. También comprobamos por porosimetría de intrusión con mercurio un aumento en el volumen de poro acumulado con respecto al suelo sin enmendar. Los cambios observados en la estructura porosa de suelos enmendados, con una distribución del tamaño de poro que tiende a desplazarse hacia tamaños de poro más pequeños, pueden repercutir positivamente en su capacidad de retención de agua, tal y como ha sido descrito por otros autores (Singh et al., 2009). Así mismo, se observó una reducción significativa en el área superficial específica medida en suelos enmendados con una dosis del 2% (p/p) con compost de alperujo. Dicha reducción puede ser debida al bloqueo de las superficies minerales del suelo por parte de la materia orgánica soluble (MOS) aportada con la enmienda.

VII.1.1.2. Cambios en la materia orgánica del suelo

Se ha comprobado que la naturaleza de la materia orgánica del suelo condiciona fuertemente el grado de adsorción de la MOS que entra *de novo* en el sistema. De ese modo, suelos cuya materia orgánica posee un alto contenido en carbonos aromáticos, presentan mayor capacidad de adsorción (Shen et al., 1999). Esto puede ser debido a interacciones hidrofóbicas entre los compuestos aromáticos y la MOS, tal y como se describe en *Capítulo II*. En suelos cultivados bajo condiciones de inundación, tal y como es el caso de gran parte de los cultivos de arroz, el estudio de la MOS procedente del propio suelo o de enmiendas orgánicas aportadas a los mismos, resulta de especial importancia, ya que jugará un papel fundamental en la cantidad y calidad de la materia orgánica disponible para las plantas y los microorganismos del suelo, así como en el destino y comportamiento de otras moléculas orgánicas como los plaguicidas. El análisis de los espectros obtenidos por espectroscopía de fluorescencia de los extractos de MOS obtenidos a partir de tres tipos de suelo, en presencia o no de compost de alperujo y de un biochar obtenido a partir del mismo, permitió comparar el grado de humificación de la MOS de suelos y enmiendas. Tal y como ha sido descrito con anterioridad por otros autores (Kaiser y Zech, 1998), pudimos comprobar una

disminución en la adsorción del carbono orgánico disuelto en suelos con un contenido creciente de carbono orgánico inicial. A su vez, los resultados permitieron comprobar que la MOS procedente del biochar (con un elevado grado de aromaticidad) presentaba una afinidad por los suelos mucho mayor que la de la MOS proveniente del compost de alperujo o de ese mismo residuo sin compostar. Dicha afinidad de la MOS procedente del biochar puede jugar un papel esencial en la retención de otras moléculas orgánicas, como las moléculas de plaguicidas, y en su destino final en suelos y aguas, tal y como se desarrolla más adelante en el apartado correspondiente a la dinámica de plaguicidas. De forma general, puede asumirse que la interacción entre la materia orgánica presente en el suelo y la MOS que se aporte al mismo, en forma de compost, biochar, o de cualquier otro tipo de enmienda orgánica que se emplee, va a depender de su estructura química y, por tanto, del origen de la misma.

VII.1.1.3. Efecto sobre parámetros fisiológicos de la planta de arroz.

De forma previa a la aplicación de compost de alperujo en las balsas experimentales que dedicamos al cultivo de arroz, se llevó a cabo un ensayo en macetas, enmendadas con distintas concentraciones de compost para comprobar posibles efectos fitotóxicos de dicha enmienda sobre la planta de arroz. Tal y como se describe en el *Capítulo IV*, no se observó ningún efecto adverso sobre la germinación y/o crecimiento de *Oryza Sativa*. En ese mismo trabajo se llevó a cabo el estudio de la fluorescencia clorofílica de plantas de arroz cultivadas en balsas experimentales en condiciones de inundación y bajo distintas dosis de enmienda con compost de alperujo. No observamos diferencias significativas en la máxima eficiencia cuántica de la fotoquímica del Fotosistema II. Sin embargo sí se observó un incremento en la eficiencia cuántica de dicho fotosistema comparando plantas crecidas sin enmienda con otras crecidas bajo una dosis de compost de alperujo del 2% (p/p). De este resultado se deduce un posible efecto positivo de dicha enmienda sobre el aparato fotosintético de las plantas de arroz crecidas en las balsas enmendadas a esa dosis. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de los pigmentos clorofílicos entre los diferentes tratamientos (sin enmienda, 1 y 2% (p/p) de compost de alperujo). Resultados muy similares han sido previamente descritos por otros autores (Mekki et al., 2013) para plantas de arroz crecidas en suelos enmendados con otros residuos derivados de la industria oleícola.

También pudimos comprobar que las plantas crecidas en suelos enmendados con diferentes dosis de compost de alperujo mostraron unas tasas fotosintéticas netas superiores a las de plantas crecidas en suelos sin enmendar. La mayor tasa fotosintética neta fue medida en plantas crecidas bajo una dosis del 1% (p/p) de dicho compost. La mayor asimilación de CO₂ parece estar relacionada con un incremento de la conductancia estomática. Tales resultados correlacionaron bien con la tendencia observada para la concentración intracelular del CO₂, donde los valores más bajos fueron registrados en plantas crecidas a la dosis máxima de compost. Los

componentes del rendimiento calculados mostraron diferencias significativas entre las plantas crecidas a distintas dosis de compost y aquellas crecidas en suelos sin enmendar. Las diferencias más significativas fueron registradas en el número de panículas por metro cuadrado, donde encontramos un importante incremento en aquellas plantas crecidas a una dosis máxima del 2% (p/p) de compost de alperujo. A esa dosis, también se observó un incremento considerable (de más de 1000 kg ha⁻¹) de la producción de arroz. A lo largo de los tres ciclos consecutivos de cultivo de arroz en las balsas experimentales pudimos observar que aquellas plantas crecidas en suelos enmendados con compost de alperujo mantuvieron a lo largo de todo el ciclo un mejor aspecto, creciendo más verdes y altas que aquellas crecidas en suelos sin enmienda. Por todo ello, lejos de causar algún efecto fitotóxico sobre el cultivo de arroz, el compost de alperujo a las dosis ensayadas tuvo un efecto muy positivo en los distintos parámetros fisiológicos medidos.

VII.1.1.4. Efecto en la emisión de gases de efecto invernadero.

De forma paralela a la disipación de azimsulfurón en suelos bajo condiciones de inundación y a capacidad de campo, se estudió el efecto del compost de alperujo sobre la emisión de gases de efecto invernadero (*Capítulo III*). A través de las concentraciones de CO₂ y CH₄, medidas a lo largo de un período de 5 semanas en suelos inundados (e incubados en ausencia de oxígeno) y en condiciones de aireación (sin inundar y en presencia de oxígeno) en las incubaciones con suelo enmendado con compost de alperujo, pudimos calcular la mineralización acumulada de C. Las diferencias entre suelos sin enmienda y suelos enmendados aumentaron significativamente a lo largo del período de incubación. La presencia de compost de alperujo aumentó significativamente la cantidad de CO₂ emitido. La mayor tasa de mineralización fue observada en el suelo enmendado, bajo condiciones de aireación (no inundado). Las emisiones de CH₄ bajo condiciones de inundación fueron muy superiores a las registradas en suelos aireados, tal y como era de esperar. La presencia de compost de alperujo en dicho suelo no incrementó significativamente las emisiones de N₂O a lo largo del período de incubación.

VII.1.1.5. Efecto sobre las comunidades microbianas del suelo.

En el *Capítulo III* se estudió la biomasa microbiana (bacterias y hongos) como un indicador de la materia orgánica de suelos. Dicha biomasa microbiana se determinó al principio y al final de una incubación de 43 días, tal y como se describe en dicho capítulo. La incubación del suelo en presencia de compost de alperujo provocó un incremento de la biomasa microbiana, tanto en condiciones de inundación como en suelo a capacidad de campo. A través del estudio de la estructura de las comunidades microbianas del suelo de las balsas experimentales dedicadas al cultivo de arroz

(*Capítulo IV*), tanto para bacterias como para hongos, no observamos diferencias significativas debido a la presencia de compost de alperujo entre las muestras de suelo analizadas para un mismo período de tiempo. Sciubba et al. (2014) describieron resultados similares, al analizar un suelo tras la aplicación de un residuo sólido procedente de una depuradora de aguas residuales previamente compostado con cáscara de arroz. La población microbiana se comportó de forma bastante estable frente a las dosis de compost ensayadas. Todo ello parece apuntar que la estructura de las comunidades microbianas predominantes parecen fluctuar más por acción del paso del tiempo y de las condiciones ambientales, que por el hecho de aplicaciones puntuales de una enmienda orgánica como es el compost de alperujo.

VII.1.2. Efecto sobre la dinámica de plaguicidas en cultivos de arroz.

A lo largo de este trabajo se han descrito diferentes tipos de interacción entre algunos de los plaguicidas más empleados en los cultivos de arroz de nuestra región y los distintos suelos estudiados, enmendados con compost de alperujo y/o biochar obtenido a partir de diversas materias primas. Entre dichas interacciones destacan fenómenos de competencia por sitios de unión a las superficies minerales del suelo, así como fenómenos de co-transporte o transporte facilitado entre la MOS procedente de las enmiendas y las moléculas de plaguicidas. Concretamente, en el *Capítulo II* de este trabajo se describe la baja adsorción del herbicida bentazona, tanto en suelos enmendados como en suelos sin enmendar, debido principalmente a la propia estructura química de este compuesto, que prevalece principalmente en su forma aniónica al pH del suelo, y a su alta solubilidad en agua. Ambos factores tienden a mantener dicho herbicida en la fase acuosa del suelo. Los resultados obtenidos para el fungicida tricyclazole, estudiado tanto en laboratorio (*Capítulos II y V*) como en condiciones de campo (*Capítulos IV*), son completamente diferentes. La adsorción de este compuesto fue drásticamente modificada por la enmienda del suelo con el biochar procedente del compost de alperujo. Dicho incremento en la adsorción se relaciona con el aumento del área superficial específica en suelos enmendados, así como con un aumento en el proceso de “coating” o recubrimiento favorecido por la mayor aromaticidad de la MOS procedente del biochar, lo cual favorece un incremento de las superficies hidrofóbicas y por tanto la adsorción de este fungicida. Al mismo tiempo, la baja concentración de MOS procedente del biochar en comparación con la del CA, reduce la competencia entre dicha materia orgánica en solución y las moléculas de pesticida por los sitios de adsorción. En algunos casos, la irreversibilidad de la adsorción entre dicho compuesto y las partículas minerales del suelo nos llevó a proponer el empleo de enmiendas combinadas, constituidas por biochar y compost, aplicados en partes iguales.

En cuanto al efecto de la aplicación de compost de alperujo sobre el comportamiento del herbicida azimsulfurón, se observó un incremento de su disipación en suelos enmendados con compost de alperujo al 2% (p/p), especialmente en aquellos casos en los que el suelo se incubó bajo condiciones de anoxia e inundación, tal y como se describe en el *Capítulo III*. La menor adsorción de azimsulfurón se observó en suelos enmendados con dicho compost. Esto se atribuyó a una mayor movilización del herbicida por transporte facilitado con las moléculas de MOS procedentes del compost. Por otro lado, la mayor cantidad de materia orgánica fácilmente asimilable aportada por la enmienda, en comparación con la de suelos sin enmendar, favorece un incremento de la biomasa microbiana y con ello la degradación de este herbicida, para el que la biodegradación es una de sus principales vías de descomposición en suelos contaminados (Valle et al., 2006).

En el *Capítulo VI* de esta tesis se describe el estudio de la adsorción – desorción de los herbicidas azimsulfurón y penoxsulam en dos suelos dedicados tradicionalmente al cultivo de arroz. Los suelos fueron enmendados con un biochar producido a partir de compost de alperujo a dos dosis diferentes (2 y 5 % p/p). Para diferenciar el efecto en las propiedades adsorbentes de los suelos del propio biochar con el efecto ocasionado por la propia interacción de la MOS procedente del biochar, los suelos fueron enmendados con el biochar y por otro lado con una versión “lavada” del mismo, en la que se había retirado el 80% de su materia orgánica extraíble con solución acuosa. En este trabajo se comprobó que tanto el biochar fresco, como su versión lavada modificaban sustancialmente las propiedades adsorbentes de los suelos. Las diferencias en la adsorción – desorción de dichos compuestos fueron principalmente relacionadas con la propia composición mineral de los suelos, con la cantidad de biochar añadido a los mismos y con la concentración y características de la MOS del biochar, tanto antes como después de ser lavado. Por espectroscopía de masas de alta resolución también pudimos comprobar que pesar de extraer en la versión lavada del biochar el 80% de la MOS, la composición de la fracción mayoritaria de dicha MOS no fue modificada sustancialmente. Por ello, podemos considerar esta enmienda una magnífica fuente de liberación de nutrientes tanto a corto como a largo plazo.

VII.1.3. Idoneidad de la enmienda con compost de alperujo o biochars producidos a partir del mismo en suelos dedicados al cultivo de arroz.

Como hemos revisado a lo largo de este trabajo, las enmiendas orgánicas aplicadas al suelo pueden ser muy variadas. En los últimos años ha adquirido un gran interés el estudio de diferentes tipos de residuos derivados de la industria oleícola para ser empleados como enmiendas orgánicas en suelos (Delgado-Moreno y Peña, 2007a; Cabrera et al., 2009). En este trabajo hemos intentado dar un paso más hacia adelante en la búsqueda de posibles enmiendas orgánicas aplicables a un cultivo de

enorme importancia en nuestra región, como es el caso del arroz bajo condiciones de inundación. De ese modo, hemos estudiado los efectos de la enmienda con compost de alperujo y biochars derivados del mismo, así como combinaciones de los mismos, para ser empleados como agentes enmendantes de suelos. Tal y como ha sido previamente observado (Alburquerque et al., 2006), el compostaje del alperujo produjo un incremento en su pH, así como una disminución del ratio C/N, y del contenido en carbono orgánico soluble y ácidos fenólicos, responsables de los posibles efectos fitotóxicos que pudiesen ser ocasionados por su aplicación.

En el *Capítulo IV* de esta tesis se presentan los resultados obtenidos de un ensayo en condiciones de campo en el que se aplicaron dosis crecientes de dicho residuo compostado. Pudo comprobarse que la enmienda con compost de alperujo no causa ningún efecto perjudicial ni a la germinación ni al desarrollo de la planta de arroz. De hecho, las plantas que fueron cultivadas en balsas en las que se aplicó dicha enmienda, mostraron un aumento en la tasa de fotosíntesis neta, lo cual se tradujo en un aumento de la producción de arroz, en comparación con la de aquellas balsas en las que no se llevó a cabo la enmienda con este residuo orgánico.

En las últimas dos décadas ha aumentado enormemente el interés general por la aplicación de carbón biológico (biochar), obtenido a partir de la carbonización de biomasa mediante pirolisis (Lehmann y Joseph, 2006). A pesar de que su empleo en suelos ha sido llevado a cabo, como el de otras enmiendas orgánicas, desde muy antiguo, su importante papel en el destino de plaguicidas (Cabrera et al., 2011) es un tema de relativa actualidad y que concierne a una numerosa parte de la comunidad científica de nuestros días.

Con el objeto de sistematizar la selección de enmiendas apropiadas para ser aplicadas al cultivo de arroz bajo condiciones de inundación, fueron llevados a cabo diferentes ensayos con varios tipos de enmiendas procedentes de residuos de la industria oleícola, aplicadas en diversas proporciones y a distintos tipos de suelos.

En el *Capítulo II* se muestran los resultados de un ensayo comparativo en el que se estudió la idoneidad de diferentes tipos de enmiendas (compost y biochars) derivadas de la industria oleícola, frente a la introducción en el sistema de un herbicida (bentazona) y un fungicida (triciclazol) ampliamente utilizados en nuestra región en el cultivo del arroz. En dicho trabajo se estudió la fuerte correlación que existe entre la MOS procedente de las enmiendas orgánicas y el comportamiento de dichos plaguicidas. Para ello, dicha materia orgánica fue extraída, cuantificada y caracterizada por diferentes técnicas espectroscópicas. A través de ensayos de lixiviación en columnas de suelo empaquetadas a mano, pudimos estudiar el comportamiento de dichos compuestos en función del tipo de enmienda aplicada. En el suelo enmendado con compost de alperujo o biochar producido a partir del mismo, pudimos observar un retraso en la lixiviación de bentazona, al compararlo con el mismo suelo enmendado

con el propio alperujo sin compostar. Dicho resultado pone de manifiesto el importante papel de la MOS aportada al sistema por la enmienda, tanto por su cantidad como por sus características (como el grado de condensación de su estructura aromática), en el destino de plaguicidas en suelos y aguas. Es especialmente relevante el papel que juega dicha materia orgánica en el cultivo de arroz bajo condiciones de inundación, debido a una mayor solubilización de la materia orgánica, tanto de la propia del suelo, como de la aportada con la enmienda. Por su parte, no encontramos diferencias significativas en el comportamiento del fungicida tricyclazole en los estudios de lixiviación llevados a cabo en las columnas de suelo, no siendo detectado en ninguno de los lixiviados recogidos después de más de un mes de ensayo.

VII.2. CONCLUSIONES

Compost de alperujo y biochars como enmiendas de suelos.

1. En condiciones de inundación, el compost de alperujo mejoró la estructura del suelo, su capacidad de retención de agua y el contenido en materia orgánica, especialmente de la materia orgánica soluble (MOS), la cual es una fuente importante de nutrientes fácilmente asimilables por las plantas y los microorganismos. En estas condiciones, la estructura de las comunidades microbianas predominantes del suelo no se vió afectada por aplicaciones puntuales de compost de alperujo.
2. La enmienda de suelos con compost de alperujo incrementó significativamente las emisiones de CO₂ y N₂O en suelos a capacidad de campo y de CH₄ en condiciones de inundación.
3. En ensayos en macetas con suelo en las que se aplicó diferentes dosis de compost de alperujo, la germinación de semillas de *Oryza sativa* no se vió afectada. En condiciones de inundación dicha enmienda tuvo un efecto positivo en la tasa fotosintética de las plantas de arroz. Esto último dio lugar a un incremento significativo en la producción de arroz.
4. El biochar producido a partir del compost de alperujo presentó una mayor área superficial específica y un menor contenido en materia orgánica que el material original, aunque de mayor complejidad.

Adsorción – desorción de pesticidas en suelos enmendados

5. En condiciones de laboratorio, la concentración, naturaleza y afinidad de la MOS de las enmiendas empleadas (compost y/o biochar), fueron relacionadas con el diferente comportamiento observado en la adsorción de triciclazol en los suelos enmendados con dichas enmiendas. La MOS de las enmiendas, adsorbida a los componentes del suelo, disminuyó la movilidad de triciclazol en el suelo debido a un cambio en sus propiedades físico químicas. La mayor aromaticidad de BC, en comparación con el compost original, se relacionó con una mayor adsorción de triciclazol.
6. La enmienda de suelos con una mezcla (1:1) de compost de alperujo y el biochar producido a 550 °C a partir del mismo, aumentó la adsorción de triciclazol en ensayos de laboratorio, sin que ello afectase a la liberación progresiva del fungicida.

7. Las propiedades adsorbentes para triciclazol de siete biochars, obtenidos por pirolisis a partir de diferentes tipos de materias primas (compost de alperujo, cáscara de arroz y restos de madera) fueron correlacionadas positivamente con la temperatura de producción, el aumento del pH, el aumento del área superficial específica y con la mayor aromaticidad de dichos biochars en comparación con sus materiales de origen. Por el contrario, se observó una correlación negativa con el contenido en MOS.
8. Los estudios de lixiviación llevados a cabo en columnas de suelo empaquetadas a mano, revelaron un retraso en la lixiviación del herbicida bentazona en suelos enmendados con compost de alperujo, en comparación con suelos sin enmendar o con suelos enmendados con el biochar producido a partir de dicho compost.
9. El herbicida azimsulfurón redujo la biomasa microbiana total en suelos bajo condiciones de inundación. El compost de alperujo redujo el efecto negativo producido por dicho herbicida sobre la biomasa microbiana. La disipación de azimsulfurón incrementó con la aplicación de compost de alperujo, pero no se vio afectada por cambios en los valores del potencial redox del suelo.
10. El biochar producido a partir del compost de tuvo efectos muy diferentes sobre las propiedades adsorbentes de los suelos estudiados para los herbicidas azimsulfurón y penoxsulam. Dichas diferencias se correlacionaron con el propio contenido en MOS de cada suelo.
11. La mayor adsorción de azimsulfurón se observó en el suelo con menor contenido en MOS, enmendado a la máxima dosis ensayada de biochar (5%). La adsorción de penoxsulam fue más débil en todos los casos, en comparación con la de azimsulfurón.
12. La retirada del 80% de los componentes del biochar extraíbles con solución acuosa modificó significativamente la adsorción de azimsulfurón y penoxsulam a dicho biochar. Tales variaciones pueden ser atribuidas a diferencias en la composición y contenido de su MOS, a variaciones en el valor de pH (aproximadamente dos unidades más bajo después del tratamiento acuoso) y a las interacciones producidas entre dicha MOS y los componentes del suelo.

VII.3. CONCLUSIONS

Alperujo compost and biochar as soil amendments

1. Under flooded conditions, alperujo compost improved soil structure increasing porosity, water holding capacity and organic matter content, specially the dissolved organic matter (DOM) which is relevant as source of readily available nutrients for plants and microorganisms. Under the same conditions, the predominant microbial community structure was not affected for punctual soil application of alperujo compost.
2. Soil amendment with alperujo compost significantly increased the emissions of CO₂ and N₂O (under unflooded conditions) and CH₄ (under flooded conditions).
3. The amendment with alperujo compost did not affect the germination of *Oryza sativa* seeds and had a positive effect on the photosynthesis rate of *Oryza sativa* plants, producing finally a significant increase in the yield rate of rice.
4. Biochar produced from alperujo compost presented lower organic matter content but a higher complexity of its DOM and a higher specific surface area than the original compos.

Adsorption – desorption of pesticides in amended soils

5. Under laboratory conditions, the different adsorption behavior observed for tricyclazole in soils amended with alperujo compost and/or biochar can be explained for the quantity, quality and affinity of DOM for soils. The adsorption of DOM from these amendments on soil components decreased the mobility of tricyclazole in the soil horizon by changing the physicochemical properties of the soil. The enhanced aromaticity of the biochar produced from alperujo compost, if we compare it with the original feedstock, was associated with the higher adsorption of the fungicide.
6. The amendment with a mixture (1:1) of alperujo compost and the biochar produced from it at 550 °C, endows an alluvial soil with high sorptive properties without impeding the slow release of tricyclazole.

7. The sorption affinity for tricyclazole of seven biochars, obtained after pyrolysis at different temperatures and from different feedstock (alperujo compost, rice hull and woody debris), was positively correlated with the pyrolysis temperature, the increased pH, the increased SSA of the biochars, and the enhanced aromaticity. Sorptive capacities were negatively related to DOM contents.
8. Leaching assays in hand packed columns revealed a slight delay of bentazone in soils amended with alperujo compost, compared with unamended soils and with soils amended with the biochar produced from that compost.
9. Azimsulfuron reduced soil microbial biomass under anoxic conditions and, alperujo compost counterbalanced this negative effect. Azimsulfuron dissipation increased with the application of alperujo compost, but was not affected by changes in redox potential values in the soil.
10. Biochar from alperujo compost had a very different effect on the sorptive properties of paddy soils for azimsulfuron and penoxsulam. These differences were correlated with the DOM content of each soil.
11. The highest adsorption of azimsulfuron was observed in the soil with the lowest content of DOM, amended at a dose of 5% with the biochar. The adsorption of penoxsulam was lower than the adsorption of azimsulfuron in all the conditions tested.
12. The removal of the 80% of biochar water extractable substances (BWES) from the biochar modified significantly the adsorption of azimsulfuron and penoxsulam. These variations can be attributed to differences in the composition and content of BWES, to pH variations (more than two units lower after the washing treatment) and to interactions among these compounds and soil mineral components.

VII.4. REFERENCIAS

- +Abdelhafid R., Houot S., Barriuso E. (2000). Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 32 (3), 389-401.
- +Abe I., Iwasaki S., Iwata Y., Kominami H., Kera Y. (1998). Relationship between production method and adsorption property of charcoal. *Tanso* 185, 277–284.
- +Abelmann K., Kleineidam S., Knicker H., Grathwohl P., Kögel-Knabner I. (2005). Sorption of HOC in soils with carbonaceous contamination: Influence of organic matter composition. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168, 293-306.
- +Aguilar M. (2010). Producción integrada del arroz en el sur de España. Consejería de Agricultura y Pesca, Servicio de Publicaciones y Divulgación, Fundación Caja Rural del Sur.
- +Ahmad S., Li C., Dai G., Zhan M., Wang J., Pan S., Cao C. (2009). Greenhouse gas emission from direct seeding paddy field under different rice tillage systems in central China. *Soil and Tillage Research* 106, 54–61.
- +Aiken G. R., Mcknight D. M., Wershaw R. L. (1985). *Humic Substances in Soil, Sediment and Water*. Wiley Interscience. New York.
- +Aislabie J., Lloydjones G. (1995). A review of bacterial-degradation of pesticides. *Australian journal of soil research*, 33, 6, 925-942.
- +Albarrán A., Celis R., Hermosín M.C., López-Piñero A., Ortega-Calvo J.J., Cornejo J. (2003). Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19, 150-156.
- +Albarrán A., Celis R., Hermosín M.C., López-Piñero A., Cornejo J. (2004). Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere* 54, 717-724.
- +Albuquerque J.A., González J., García D., Cegarra J. (2004). Agrochemical characterization of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Biores. Technol.* 91, 195-200.
- +Albuquerque J.A., González J., García D., Cegarra J. (2006). Composting of a solid olive-mill by product (“alperujo”) and the potential of the resulting compost for cultivating pepper under commercial conditions. *Waste Manage.* 26, 620–626.

+Alburquerque J.A., González J., Tortosa G., Cegarra J. (2009). Evaluation of “alperujo” composting based on organic matter degradation, humification and compost quality. *Biodegradation* 20, 257-270.

+Alfano G., Lustrato G., Lima G., Vitullo D., Delfine S., Tognetti R., Ranalli G. (2009). Physicochemical, microbiological, agronomical, and phytopathological aspects in the recycling of olive waste composted residues. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, Global Science Books.

+Alister C.A., Araya M.A., Kogan M. (2011). Adsorption and desorption variability of four herbicides used in paddy rice production. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 46(1), 62–68.

+Allen R., Walker A. (1987). The Influence of soil properties on the rates of degradation of metamitron, metazachlor and metribuzin. *Pesticide Science*, 18, 2, 95-111.

+Andrades M.S., Rodríguez-Cruz M.S., Sánchez-Martín M.J., Sánchez-Camazano M. (2004). Effect of the addition of wine distillery wastes to vineyard soils on the adsorption and mobility of fungicides. *J. Agric. And Food Chem.* 52, 3022-3029.

+Atkinson C.J., Fitzgerald J.D., Hipps N.A. (2010). Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant and Soil* 337(1-2), 1–18.

+Avnir D., Farin D., Pfeifer P. (1984). Molecular fractal surfaces. *Nature* 308, 261-263.

+Azam F., Fuhr F., Mittelstaedt W. (1988). Fate of [Carbonyl-C-14] menthabenzthiazuron in an arid region soil - Effect of organic amendment, soil disturbance and fumigation. *Plant Soil* 107, 149-158.

+Bagreev A., Bandosz T.J., Locke D.C. (2001). Pore structure and surface chemistry of adsorbents obtained by pyrolysis of sewage sludge-derived fertilizer. *Carbon* 39(13), 1971–1979.

+Baldock J.A., Smernik R.J. (2002). Chemical composition and bioavailability of thermally altered *Pinus resinosa* (Red Pine) wood. *Organic Geochemistry* 33, 1093-1109.

+Ball W.P., Roberts P.V. (1991). Long-term sorption of halogenated organic-chemicals by aquifer material. *Equilibrium. Environmental Science & Technology* 25, 7, 1223-1237.

+Barefoot A.C., Kato C., Ksato Y. (1995). Environmental fate of azimsulfuron, a new herbicide for rice. *Brighton Crop Protection Conference: Weeds* 2, 713–718.

+Barriuso E., Baer U., Calvet R. (1992). Dissolved organic matter and adsorption-desorption of dimefuron, atrazine, and carbetamide by soils, *J. Environ. Qual.* 21, 359-367.

+Barriuso E., Laird D.A., Koskinen W.C., Dowdy R.H. (1994). Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1632-8.

+Barriuso E., Houot S., Serra-Wittling C. (1997). Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pesticide Science* 49, 65–75.

+Barriuso E., Andrades M.S., Benoit P., Houot S. (2010). Pesticide desorption from soils facilitated by dissolved organic matter coming from composts: experimental data and modelling approach. *Biogeochemistry* 106(1):117–133.

+Bartoli F., Philippp R., Doirisse, M., Niquet, S, Dubuit, M. (1991). Structure and self-similarity in silty and sandy soils - The fractal approach. *Journal of Soil Science* 42, (2), 167-185.

+Bayer C., Martin-Neto L., Mielniczuck J., Saab S.C., Milori D.M.P., Bagnato V.S. (2002). Tillage and cropping system on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. *Geoderma* 105, 81-92.

+Beck A.J., Johnston A.E., Jones K.C. (1993). Movement of nonionic organic chemicals in agricultural soils. *Critical reviews. Environ Sci Technol* 23, 219-248.

+Beck A.J., Lam V., Henderson D.E., Beven K.J. Harris G.L., Howse K.R., Johnston A.E.J., Jones, K.C. (1995). Movement of water and the herbicides atrazine and isoproturon through a large structured clay soil core. *Journal of Contaminant Hydrology* 19, 3, 237-260.

+Beesley L., Moreno-Jimenez E., Gomez-Eyles J.L. (2010). Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil. *Environ Pollut.* 158, 2282–2287.

+Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L., Harris E., Robinson B., Sizmur T. (2011). A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. *Environmental pollution* 159(12), 3269–3282.

+Benton J.J. (1991). Kjeldahl Method for Nitrogen Determination. Micro-Macro Publishing: Athens, GA.

+Bernal M.P., Albuquerque J.A., Moral R. (2009). Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresour. Technol.* 100, 5444–5453.

+Bertsch P.M., Herbert B.E., Hunter D.B. (1993). Probing inorganic and organic sorbate-sorbent environments by multi-NMR-spectroscopy. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 205, 5-envr, part 1.

+Beyer E.M., Duffy M.J., Hay J.V., Schlueter D.D. (1988). Sulfonylurea herbicides. In *Herbicides Chemistry, Degradation and Mode of Action*. Ed. Kearney PC and Kaufmann DD, pp. 117–189. New York: Marcel Dekker.

+Bird M.I., Ascough P.L., Young I.M., Wood C.V., Scott A.C. (2008). X-ray microtomographic imaging of charcoal. *J. Archaeol. Sci.* 35, 2698–2706.

+Biziuk M., Przyjazny A., Czerwinski J., Wiergowski M. (1996). Occurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. *Journal of Chromatography A*, 754, 1-2, 103-123.

+Boesten J.J.T.I., Vanderlinden A. (1991). Modeling the influence of sorption and transformation on pesticide leaching and persistence. *Journal of Environmental Quality* 20, 2, 425-435.

+Bolan N.S., Adriano D., Kunhikrishnan A., James T., McDowell R., Senesi N. (2011). Dissolved organic carbon: biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils. *Adv Agron* 110, 1-75.

+Borggaard Ole K., Gimsing A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science*, 64, 4, 441-456.

+Boschin G., D'Agostina A., Antonioni C., Locati D., Arnoldi A. (2007). Hydrolytic degradation of azimsulfuron, a sulfonylurea herbicide. *Chemosphere* 68, 1312–1317.

+Bowman B. T. (1989). Mobility and persistence of the herbicides atrazine, metolachlor and terbuthylazine in plainfield sand determined using field lysimeters. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8, 6, 485-491.

+Branstetter A., Sletten R.S., Mentler A., Wenzel W. (1996). Estimating dissolved organic carbon in natural waters by UV absorbance (254 nm). *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 151, 605-607.

+Brewer C.E., Unger R., Schmidt-Rohr K., Brown R.C. (2011). Criteria to Select Biochars for Field Studies based on Biochar Chemical Properties. *Bioenerg. Res.* 4, 312–323.

+Bromilow R.H., Evans A.A., Nicholls P.H. (1999). Factors affecting degradation rates of five triazole fungicides in two soil types: 1. Laboratory incubations. *Pestic. Sci.* 55, 1129–1134.

+Brown, H.M. (1990). Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pesticide Science* 29, 263–281.

+Brown K.J., Clark J.S., Grimm E.C., Donovan J.J., Mueller P.G., Hansen B.C.S., Stefanova I. (2005). Fire cycles in North American interior grasslands and their relation to prairie drought. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 8865–8870.

+Brodowski S., Amelung W., Haumeier L., Abetz C., Zech W. (2005). Morphological and chemical properties of black carbon in physical soil fractions as revealed by scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy. *Geoderma* 128, 116–129.

+Brunauer S., Emmett P.H., Teller E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Contribution from The Bureau of Chemistry and Soils and George Washington University*, 309–319.

+Brusa T., Ferrari F., Bolzacchini E., Rindone B. (2001). Study on the microbiological degradation of bensulfuron methyl. *Annals of Microbiology* 51, 189–199.

+Brusseau, M.L., Jessup, R.E. Rao, P.S.C. (1991). Non equilibrium sorption of organic chemicals: elucidation of rate-limiting processes. *Environmental Science and Technology* 25, 134-142.

+Burgos W.D., Novak J.T., Berry D.F. (1996). Reversible sorption and irreversible binding of naphthalene and alpha-naphthol to soil: Elucidation of processes. *Environmental Science & Technology* 30, 4, 1205-1211.

+Cabrera A., Cox L., Fernández-Hernández A., García-Ortiz C., Cornejo J. (2009). Field appraisement of olive mills solid waste application in olive crops: effect on herbicide retention. *Agric. Ecosyst. And Environ.* 132, 260-266.

+Cabrera A., Cox L., Spokas K.A., Celis R., Hermosín M.C., Cornejo J., Koskinen W.C. (2011). Comparative sorption and leaching study of the herbicides fluometuron and MCPA in a soil amended with biochars and other sorbents. *J. Agric. Food Chem.* 59, 12550-12560.

+Cabrera A., Cox L., Spokas K., Hermosín M.C., Cornejo J., Koskinen W.C. (2014). Influence of biochar amendments on the sorption-desorption of aminocyclopyrachlor, bentazone and pyraclostrobin pesticides to an agricultural soil. *Sci. Total Environ.* 470 (471), 438–443.

+Calamai L., Pantani O., Pusino A., Gessa C., Fusi P. (1997). Interaction of rimsulfuron with smectities. *Clays and Clay Minerals* 45(1), 23–27.

+Calderón M.J., Real M., Cabrera A, Koskinen W.C., Cornejo J., Hermosin M.C. 2015. Influence of olive oil mill waste amendment on fate of oxyfluorfen in southern Spain soils. *Clean* (in press). DOI: 10.1002/clen.201400560.

+Calvet R. (1989). Adsorption of Organic-Chemicals in Soils. *Environmental Health Perspectives*, 83, 145-177.

+Cantrell K., Ro K., Mahajan D., Anjom M., Hunt P.G. (2007). Role of thermochemical conversion in livestock waste-to-energy treatments: Obstacles and opportunities. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 46, 8918-8927.

+Cantrell K.B., Hunt P.G., Uchimiya M., Novak J.M., Ro K.S. (2012). Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar. *Bioresource technology* 107, 419–28.

+Cañero A.I., Becerra D., Cornejo J., Hermosín M.C., Albarrán A., López-Piñeiro A., Cox L. (2012). Transformation of organic wastes in soil: effect on bentazone behaviour. *Sci. Total Environ.* 433, 198–205.

+Cao X., Harris W. (2010). Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. *Bioresource technology* 101(14), 5222–5228.

+Carabias-Martínez R., Rodríguez-Gonzalo E., Fernández-Laespada M., Sánchez-San Román F.J. (2000). Evaluation of surface and groundwater pollution due to herbicides in agricultural areas of Zamora and Salamanca (Spain). *Journal of Chromatography A*, 869, 1-2, 471-480.

+Carabias-Martínez R., Rodríguez-Gonzalo E., Fernández-Laespada M., Calvo-Seronero L. y Sánchez-San Román F.J. (2003). Evolution over time of the agricultural pollution of waters in an area of Salamanca and Zamora (Spain). *Water Res.* 37, 928-938.

+Carrizosa M.J., Calderón M.J., Hermosín M.C., Cornejo J. (2000). Organosmectites as sorbent and carrier of the herbicide bentazone. *The Science of the Total Environment* 247:285-293.

+Case Sean D.C., McNamara N.P., Reay D.S., Whitaker J. (2012). The effect of biochar addition on N₂O and CO₂ emissions from a sandy loam soil. The role of soil aeration. *Soil Biol. Biochem.* 51 125–134.

+Celis R., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (1996). Retention of metamitron by model and natural particulate matter. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 65, 1-4, 245-260.

+Celis R., Barriuso E., Houot S. (1998). Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: Dissolved organic matter effects. *Journal of Environmental Quality* 27, 6, 1348-1356.

+Celis R., Koskinen W.C., Hermosín M.C., Cornejo J. (1999a). Sorption and desorption of triadimefon by soils and model soils colloids. *J. Agric. Food Chem.* 47, 776-781.

+Celis R., Hermosín M.C., Cox L., y Cornejo J. (1999b). Sorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by model particles simulating naturally occurring soil colloids. *Environmental Science and Technology* 33, 8, 1200-1206.

+Chagger H., Kendall A., McDonald A., Pourkashanian M., Williams A. (1998). Formation of dioxins and other semi-volatile organic compounds in biomass combustion. *Applied Energy* 60(2), 101–114.

+Chan K.Y, Van Zwieten L., Meszaros I.A., Downie A., Joseph S. (2007). Agronomic values of green waste as a soil amendment. *Aust. J. Soil Res.* 45, 629–634.

+Chefetz B., Hatcher P.G., Hadar Y., Chen Y. (1998). Characterization of dissolved organic matter extracted from composted municipal solid waste. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62, 326-332.

+Chen B., Zhou D., Zhu L. (2008). Transitional adsorption and partition of nonpolar and polar aromatic contaminants by biochars of pine needles with different pyrolytic temperatures. *Environmental Science Technology* 42(14), 5137-43.

+Chen J., Gu B., LeBoeuf J.L., Pan H., Dai S. (2002). Spectroscopic characterization of natural organic matter fractions. *Chemosphere* 48, 59-68.

+Chen J., LeBoeuf J.L., Dai S., Gu B. (2003). Fluorescence studies of natural organic fractions. *Chemosphere* 50, 639-647.

+Cheng C.H., Lehmann J. Thies J.E., Burton S.D. (2008). Stability of black carbon in soils across a climatic gradient. *Journal of Geophysical Research* 113, G02027.

+Chiou C. T., Peters L. J., y Freed V. H. (1979). A physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic compounds. *Science* 206, 4420, 831-832.

+Chiou C. T., Shoup T.D., Porter P.E. (1985). Mechanistic roles of soil humus and minerals in the sorption of nonionic organic compounds from aqueous and organic solutions. *Org. Geochem.* 8, 9-14.

+Chiou C. T., y Kile D. E., (1994). Effects of polar and nonpolar groups on the solubility of organic compounds in soil organic matter. *Environmental Science and Technology* 28, 6, 1139-1144.

+Chiron S., Valverde A., Fernandez-Alba A., y Barceló D. (1995). Automated sample preparation for monitoring groundwater pollution by carbamate insecticides and their transformation products. *Journal of AOAC International*, 78, 6, 1346-1352.

+Clay S. A., Koskinen W. C., Allmaras R. R., Dowdy R. H. (1988). Differences in herbicide adsorption on soil using several modification techniques. *J. Environ. Sci. Health B23*, 559-573.

+Conte P., Abbate C., Baglieri A., Nègre M., Pasquale C.D., Alonzo G., Gennari M. (2011). Adsorption of dissolved organic matter on clay minerals as assessed by infra-red, CPMAS ¹³C NMR spectroscopy and low field T1 NMR relaxometry. *Organic Geochemistry* 42(8), 972-977.

+Cornejo J., Hermosín M. C., White J. L., Barnes J. R., y Hem S. L. (1983). Role of ferric iron in the oxidation of hydrocortisone by sepiolite and palygorskite. *Clays & Clay Minerals*, 31, 2, 109-112.

+Cornejo J., Celis R., Pavlovic I., Ulibarri MA. (2008). Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. *Clay Minerals* 43, 2, 155-175.

+Cornelissen G., Gustafsson O., Bucheli T.D., Jonker M.T.O., Koelmans A.A., Van Noort P.C.M. (2005). Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6881–6895.

+Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (1995). Adsorption Mechanisms of Thiazafururon in Mineral Soil Clay Components. *European Journal of Soil Science*, 46, 3, 431-438.

+Cox L., Hermosín, M.C., Cornejo, J., Mansour, M., (1996). Photolysis of metamitron in water in the presence of soils and soil components. *Chemosphere* 33, 2057-2064.

+Cox L., Celis R., Hermosín M. C., Becker A., y Cornejo J. (1997a). Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 65, 2, 151-161.

+Cox L., Hermosín M.C., Celis R., Cornejo J. (1997b). Sorption of two polar herbicides in soils and soil clays suspensions. *Water Research* 31(6), 1309-1316.

+Cox L., Koskinen W.C., Yen P.Y. (1998). Changes in sorption of Imidacloprid with incubation time. *Soil Science Society of America Journal* 62, 2, 342-347.

+Cox L., Celis R., Hermosín M. C., y Cornejo J. (2000a). Natural soil colloids to retard simazine and 2,4-D leaching in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 1, 93-99.

+Cox L., Celis R., Hermosín M.C., Cornejo J., Zsolnay A., Zeller K. (2000b). Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of the dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4600-4605.

+Cox L., Cecchi A., Celis R., Hermosín M. C., Koskinen W. C., y Cornejo J. (2001). Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Science Society of America Journal* 65, 6, 1688-1695.

+Cox L., Fernandes M.C., Zsolnay A., Hermosín M.C., Cornejo J. (2004). Changes in dissolved organic carbon of soil amendments with aging: effect on pesticide adsorption behavior. *J. Agr. Food Chem.* 52, 5635–5642.

+Cox L., Velarde P., Cabrera A., Hermosín M.C., Cornejo J. (2007). Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 714-721.

+Cross A., Sohi S.P. (2011). The priming potential of biochar products in relation to labile carbon contents and soil organic matter status. *Soil Biology and Biochemistry* 43(10), 2127–2134.

+Curtin D., Campbell C.A., Jalil A. (1998). Effects of acidity on mineralization: pH-dependence of organic matter mineralization in weakly acidic soils. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 57–64.

+Dai X.Y., Ping C.L., Michaelson G.J. (2002). Characterization soil organic matter in Arctic tundra soils by different analytical approaches. *Org. Geochem.* 33, 407-419.

+Dec J., Bollag J.M. (1988) Microbial release and degradation of catechol and chlorophenols bound to synthetic humic-acid. *Soil Science Society of America Journal* 52 , 5, 1366-1371.

+Delgado-Moreno L., Peña A. (2007a). Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6213-6218.

+Delgado-Moreno L., Almendros G., Peña A. (2007b). Raw or incubated olive-mill wastes and its biotransformed products as agricultural soil amendments – Effect on sorption-desorption of triazine herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 55, 836-843.

+Delgado-Moreno L., Peña A., Almendros G. (2010). Contribution by different organic fractions to triazines sorption in Calcaric Regosol amended with raw and biotransformed olive cake. *Journal of Hazardous Materials* 174, 93–99.

+Della Greca M., Monaco P., Pinto G., Pollio A., Previtera L., Temessi F. (2001). Phytotoxicity of low-molecular-weight phenols from olive mill wastewaters. *B. Environ. Contam. Tox.* 67, 352–359.

+Demirbas, A. (2004). Bioenergy, global warming, and environmental impacts. *Energy Sources* 26, 225-236.

+Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochem.* 48, 1532–1552.

+Dias J.M., Alvim-Ferraz M.C.M., Almeida M.F., Rivera-Utrilla J., Sanchez-Polo M. (2007). Waste materials for activated carbon preparation and its use in aqueous-phase treatment: a review. *Journal of Environmental Management* 85, 833–846.

+Dong H., Li F., Li J., Li Y. (2012). Characterizations of blend gels of carboxymethylated polysaccharides and their use for the controlled release of herbicide. *J. Macromol. Sci. Chem.* 49, 235–241.

+Dousset S., Babut M., Andreux F., Schiavon M. (2004). Alachlor and bentazone losses from subsurface drainage of two soils. *Journal of environmental quality* 33(1), 294–301.

+Doyle R.C., Kaufman D.D., Burt G.W. (1978). Effect of dairy manure and sewage sludge on ¹⁴C-pesticide degradation in soil. *J. Agric. Food Chem.* 26, 987-989.

+Dubus I. G., Barriuso E., y Calvet R. (2001). Sorption of weak organic acids in soils: Clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere* 45, 6-7, 767-774.

+Dubus I.G., Beulke S., Brown, C.D. (2002). Calibration of pesticide leaching models: critical review and guidance for reporting. *Pest Management Science*, 58, 8, 745-758.

+Enders A., Hanley K., Whitman T., Joseph S., Lehmann J. (2012). Characterization of biochars to evaluate recalcitrance and agronomic performance. *Bioresource Technol.* 114, 644–653.

+European Food Safety Authority. (2010). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azimsulfuron. *EFSA Journal* 8,1554–1615.

+Fagnano M., Adamo P., Zampella M., Fiorentino N. (2011). Environmental and agronomic impact of fertilization with composted organic fraction from municipal solid waste: A case study in the region of Naples, Italy. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 141(1-2), 100–107.

+Fernandes M.B., Brooks P. (2003). Characterization of carbonaceous combustion residues: II. Nonpolar organic compounds. *Chemosphere* 53, 447–458.

+Fernandes M.C., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (2006). Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest Manag. Sci.* 62, 1207-1215.

+Fernández-Bayo J., Nogales R., Romero E. (2009). Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content. *Eur. J. Soil Sci.* 60, 935–944.

+Fernández-Gutiérrez A., Martínez-Vidal J.L., Arrebola-Liebanas F. J., González-Casad, A., Vilchez J. K. (1998). Determination of endosulfan and some pyrethroids in waters by micro liquid-liquid extraction and GC-MS. *Fresenius, Journal of Analytical Chemistry* 360, 5, 568-572.

+Fiedler S., Kalbitz K. (2003). Concentrations and properties of dissolved organic matter in forest soils as affected by the redox regime. *Soil Science* 168, 793–801.

+Frenich A.G., Espada M.D.P., Vidal J.L.M., Molina L. (2001). Broad-spectrum determination of pesticides in groundwater by gas chromatography with electron capture detection, nitrogen-phosphorus detection, and tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International* 84, 6, 1751-1762.

+Fu M.H., Mayton H., Alexander M. (1994). Desorption and biodegradation of sorbed styrene in soil and aquifer solids. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13, 749-753.

+Fuhr F., Mittelstaedt W. Putz, T., Stork, A. (1996). Pesticide residues in the environment: Combining laboratory, lysimeter and field studies. *Environmental Fate of Xenobiotics*, 33-48.

+Gallardo-Lancho J. (1982). [La materia orgánica del suelo: su importancia en suelos naturales y cultivados](#). I.O.A.T.O. Centro de Edafología y Biología Aplicada, Salamanca.

+Gámiz B., Celis R., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (2012). Effect of olive-mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive groves. *The Science of the total environment* 429, 292–299.

+Gamón M., Sáez E., Gil J., Boluda R. (2003). Direct and Indirect Exogenous Contamination by Pesticides of Rice-Farming Soils in a Mediterranean Wetland. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44, 141–151.

+García-Jaramillo M., Cox L., Cornejo J., Hermosín. M.C. (2014). Effect of soil organic amendments on the behavior of bentazone and tricyclazole. *Science of the Total Environment* 466–467, 906–913.

+Gaunt J., Lehmann J. (2008). Energy balance and emissions associated with biochar sequestration and pyrolysis bioenergy production. *Environmental Science and Technology* 42, 4152-4158.

+Gee G.W., Bauder J.W. (1986). Particle-size analysis. In *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*, 2nd ed.; Klute, A., Ed.; ASA: Madison, WI, pp 383–4.

+Gevao B., Semple K.T., Jones K.C. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution* 108, 3–14.

+Giles C.H., MacEwan T.H., Nakhwa S.N., Smith D. (1960). Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 3973-3993.

+Giori F.G., Tornisiello V.L., Regitano J.B. (2014). The role of sugarcane residues in the sorption and leaching of herbicides in two tropical soils. *Water Air Soil Pollut.* 225, 19–35.

+Glaser B., Haumaier L., Guggenberger G., Zech W. (2001). The Terra Preta phenomenon: a model for sustainable agriculture in the humid tropics. *Naturwissenschaften* 88, 37-41.

+Gondar D., López R., Antelo J., Fiol S., Arce F. (2013). Effect of organic matter and pH on the adsorption of metalaxyl and penconazole by soils. *J. Hazard. Mater.* 260, 627–633.

+González-Vila F.J., Almendros G., Madrid F. (1999). Molecular alteration of organic fraction from urban waste in the course of composting and their further transformation in amended soil. *Sci. Tot. Environ.* 236, 215-229.

+Graber E.R., Dror I., Bercovich F.C., Rosner M. (2001). Enhanced transport of pesticides in a field trial with treated sewage sludge. *Chemosphere* 44, 805–811.

+Graber E.R., Tsechansky L., Khanukov J., Oka Y. (2011). Sorption, volatilization, and efficacy of the fumigant 1,3-dichloropropene in a biochar-amended soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75, 1365–1373.

+Gramatica P., Di Guardo A. (2002). Screening of pesticides for environmental partitioning tendency. *Chemosphere* 47, 947-956.

+Green R. E., Karickhoff S. W. (1990). Sorption estimates for modeling. *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Soil Science Society of America, Madison, WI, 79-101.

+Gregg S. J., Sing K. S. W. (1982). *Adsorption, Surface area and Porosity*. London, Academic Press.

+Guggenheim S., Martin R. T. (1995). Definition of clay and clay mineral - joint report of the aipea and CMS nomenclature committees. *Clay Minerals* 30, 3, 257-259.

+Guntinas M.E., Gil-Sotres F., Leiros M.C., Trasar-Cepeda C. (2009). CO₂ emission from soils under different uses and flooding conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2598–2601.

+Gustafson D. I. (1989). Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8, 4, 339-357.

+Haham H., Oren A., Chefetz B. (2012). Insight into the role of dissolved organic matter in sorption of sulfapyridine by semiarid soils. *Environmental science & technology* 46(21):11870–11877.

+Hale S.E., Hanley K., Lehmann J., Zimmerman A.R., Cornelissen G. (2011). Effects of chemical, biological, and physical aging as well as soil addition on the sorption of pyrene to activated carbon and biochar. *Environmental Science and Technology* 45(24), 10445–10453.

+Hanke A., Cerli C., Muhr J., Borken W., Kalbitz K. (2013). Redox control on carbon mineralization and dissolved organic matter along a chronosequence of paddy soils. *European Journal of Soil Science* 64, 476–478.

+Hay J.V. (1990). Chemistry of sulfonylurea herbicides. *Pesticide Science* 29(3), 247–261.

+Hayes M.H.B. (2006). Solvent systems for the isolation of organic components from soils. *Soil Science Society of America Journal* 70, 3, 986-994.

+Herbert B.E., Bertsch P.M. (1995). Characterization of dissolved and colloidal organic matter in soil solution. A review. *Carbon Forms and Functions in Forest Soils* 63-88.

+Hermosín M.C., Cornejo J. (1989). Assessing soil factors related to pesticide adsorption by soils. *Toxicological and Environmental Chemistry* 25, 45-55.

+Hermosín M.C., Cornejo J., Cox L. (2000). Calculation and validation of K_{clay} as predictor for polar or ionic pesticide adsorption by soils. *Pesticide/Soil Interactions. techniques et pratiques*, 131-139.

+Hermosín M.C., Calderón M.J., Real M., Cornejo J. (2013). Impact of herbicides used in olive groves on waters of the Guadalquivir river basin (southern Spain). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 164, 229-243.

+Hildebrandt A., Guillamón M., Lacorte S., Tauler R. y Barceló D. (2008). Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and ground water quality (North Spain). *Water Res.* 42, 3315-3326.

+Horspool W.M. (1970). Aspects of organic photochemistry. Ed. Academic Press. Londres.

+Houot S., Barriuso E., Bergheaud V. (1998). Modifications to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* 30, 2147-2157.

+Hyun S., Lee L.S., Rao P.S.C. (2003). Significance of anion exchange in pentachlorophenol sorption by variable-charge soils. *Journal of Environmental Quality* 32(3), 966–976.

+Ibáñez M., Sancho J.V., Pozo O.J., Niessen W., Hernández F. (2005). Use of quadrupole time-of-flight mass spectrometry in the elucidation of unknown compounds present in environmental water. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 19(2), 169–178.

+Ippolito J.A., Laird D.A., Busscher W.J. (2012). Environmental benefits of biochar. *Journal of Environmental Quality* 41(4), 967–72.

+Jabusch T., Tjeerdema R. (2005). Partitioning of penoxsulam, a new sulfonamide herbicide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(18), 7179–7183.

+Jackson, M. L. Soil Chemical Analysis, 2nd ed.; Jackson, M. L., Ed.; published by the author at University of Wisconsin: Madison, WI, 1975.

+Jiang G.Y., Xu M.G., He H.H., Zhang W.J., Huang S.M., Yang X.Y., Liu H., Peng C., Shirato Y., Lizumi T., Wang J.Z., Murphy D.V. (2014). Global Biogeochemical Cycles 28, 319–333.

+Joergensen R. G. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the *k_{ec}* value. Soil Biology and Biochemistry 28, 25–31.

+Kah M., Brown C.D. (2007). Prediction of the adsorption of ionizable pesticides in soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(6), 2312–2322.

+Kaiser K., Zech W. (1997). Competitive sorption of dissolved organic matter fractions to soils and related mineral phases. Soil Science Society of America Journal 61, 1, 64–69.

+Kaiser K., Zech, W. (1998). [Rates of dissolved organic matter release and sorption in forest soils.](#) Soil Science 163, 9, 714–725.

+Kaiser K., Zech W. (2000). Dissolved organic matter sorption by mineral constituents of subsoil clay fractions. J. Plant Nutr. Soil Sci. 163, 531–535.

+Kaiser K., Haumaier L., Zech W. (2000). The sorption of organic matter in soils as affected by the nature of soil carbon. Soil Science 165, 305–313.

+Kaiser K., Guggenberger G. (2003). Mineral surfaces and soil organic matter. Eur. J. Soil Sci. 54, 219–236.

+Kalbitz K., Solinger S., Park J.H., Michalzik B. y Matzner E. (2000). Controls on the dynamics dissolved organic matter in soils: A review. Soil Science 165, 4, 277–304.

+Kalbitz K., Geyer W. (2001). Humification indices of water-soluble fulvic acids derived from synchronous fluorescence spectra ± effects of spectrometer type and concentration. J. Plant Nutr. Soil Sci. 164, 259–265.

+Kalbitz K., Schmerwitz J., Schwesig D., Matzner E. (2003). Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. Geoderma 113, 273–291.

+Kato M., Murase J., Hayashi M., Matsuya K., Kimura M. (2004). Nutrient leaching from the plow layer by water percolation and accumulation in the subsoil in an irrigated paddy field. *Soil Science and Plant Nutrition* 50, 721–729.

+Kavdir Y., Canakkale D.K. (2008). Influence of olive oil solid waste applications on soil pH, electrical conductivity, soil nitrogen transformations, carbon content and aggregate stability. *Bioresource Technology* 99, 2326–2332.

+Keiluweit M., Kleber M. (2009). Molecular-Level Interactions in Soils and Sediments: the role of Aromatic π -systems. *Environmental Science and Technology* 43, 3421–3429.

+Keiluweit M., Nico P.S., Johnson M.G., Kleber M. (2010). Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). *Environ. Sci. Technol.* 44, 1247–1253.

+Khan S. U. (1982). Bound pesticide-residues in soil and plants. *Residue Reviews* 84, 1-25.

+Kim J., Liu K.H., Kang S. H., Koo S. J., Kim J. H. (2003). Degradation of the sulfonylurea herbicide LGC-42153 in flooded soil. *Pest Management Science* 59, 1260–1264.

+Kimetu J., Lehmann J., Ngoze S., Mugendi D., Kinyangi J., Riha S., Verchot L., Recha J., Pell A. (2008). Reversibility of soil productivity decline with organic matter of differing quality along a degradation gradient. *Ecosystems* 11, 726-739.

+Kishimoto S., Sugiura G. (1980). *Introduction to Charcoal Making on Sunday*, Sougou Kagaku Shuppan, Tokyo (in Japanese).

+Kishimoto S., Sugiura G. (1985). Charcoal as a Soil Conditioner. In: *Symposium on forest products research, International Achievements for the Future*, 5, 12-23.

+Kloss S., Zehetner F., Dellantonio A., Hamid R., Ottner F., Liedtke V., Schwanninger M., Gerzabek M.H., Soja G. (2012). Characterization of slow pyrolysis biochars: effects of feedstocks and pyrolysis temperature on biochar properties. *Journal of environmental quality* 41(4), 990–1000.

., Keiluweit M., Kleber M., Sander M. (2014). Redox Properties of Plant Biomass-Derived Black Carbon (Biochar). *Environ. Sci. Technol.* 48, 5601–5611.

+Knicker H., Totsche K.U., Almendros G., González-Vila F.J. (2005). Condensation degree of burnt peat and plant residues and the reliability of solid-state VACP MAS ^{13}C NMR spectra obtained from pyrogenic humic material. *Org. Geochem.* 36, 1359–1377.

+Knicker H. (2010). "Black nitrogen" - an important fraction in determining the recalcitrance of charcoal. *Org. Geochem.* 41, 947-950.

+Knicker H. (2011). Solid state CPMAS ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy in organic geochemistry and how spin dynamics can either aggravate or improve spectra interpretation. *Org. Geochem.* 42, 867-890.

+Koelmans A.A., Jonker M.T.O., Cornelissen G., Bucheli T.D., Van Noort P.C.M., Gustafsson Ö. (2006). Black carbon: the reverse of its dark side. *Chemosphere* 63, 365–377.

+Kögel-Knabner I., Amelung W., Cao Z., Fiedler S., Frenzel P., Jahn R., Kalbitz K., Kölbl A., Schloter M. (2010). Biogeochemistry of paddy soils. *Geoderma* 157, 1–14.

+Kovac N., Bajt O., Faganeli J., Sket B., Orel B. (2002). Study of macroaggregate composition using FT-IR and ^1H -NMR spectroscopy. *Marine Chemistry* 78(4), 205–215.

+Koskinen W.C., Calderon M.J., Rice P., Cornejo J. (2006). Sorption–desorption of flucarbazone and propoxycarbazone and their benzenesulfonamide and triazolinone metabolites in two soils. *Pest Management Science* 62(7), 598–602.

+Kumada K. (1987). Chemistry of soil organic matter. Japan Scientific Soc. Press-Elsevier, Tokio-Amsterdam, 242 pp.

+Kuster M., López de Alda M.J., Barata C., Raldúa D., Barceló D. (2008). Analysis of 17 polar to semi-polar pesticides in the Ebro river delta during the main growing season of rice by automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta* 75, 390–401.

+Laine J., Yunes S. (1992). Effect of the preparation method on the pore size distribution of activated carbon from coconut shell. *Carbon* 30, 601–604.

+Laird D.A. Interactions between atrazine and smectite surfaces. (1996). *Herbicide Metabolites in Surface Water and Groundwater*. Book. ACS Symposium Series, 630, 86-100.

+Laird D.A. (2008). The Charcoal Vision: a win-win-win scenario for simultaneously producing bioenergy, permanently sequestering carbon, while improving soil and water quality. *Agron. J.* 100, 178–181.

+Lampman W. (1995). Susceptibility of groundwater to pesticide and nitrate contamination in predisposed areas of southwestern Ontario. *Water Qual. Res. Jour. Canada* 30, 443-468.

+Lányi K., Dinya Z. (2003). Photodegradation study of some triazine-type herbicides. *Microchemical Journal* 75, 1, 1-14.

+Lee L.S., Rao P.S.C., Nkedi-Kizza P., Delfino J.J. (1990). Influence of solvent and sorbent characteristics on distribution of pentachlorophenol in octanol-water and soil-water systems. *Environmental Science and Technology* 24(5), 654–661.

+Lee J.W., Kidder M., Evans B.R., Paik S., Buchanan A.C., Garten C.T., Brown R.C. (2010). Characterization of biochars produced from cornstovers for soil amendment. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7970–7974.

+Lehmann J., Kern D.C., Glaser B., Woods W.I. (2003a). *Amazonian Dark Earths: Origin, Properties, Management*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

+Lehmann J., da Silva Jr. J.P., Steiner C., Nehls T., Zech W., Glaser B. (2003b). Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant and Soil* 249, 343-357.

+Lehmann J., Gaunt J., Rondon M. (2006). Biochar sequestration in terrestrial ecosystems – a review. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 11, 403-427.

+Lehmann J., Joseph S. (2006). *Biochar for environmental management: science and technology*. Earthscan.

+Lehmann J. (2007a). A handful of carbon. *Nature* 447, 143-144.

+Lehmann J. (2007b). Bioenergy in the black. *Front. Ecol. Environ.* 5, 381–387.

+Lehmann J. (2009). Terra Preta Nova – Where to from here?, in: W.I. Woods, W.G. Teixeira, J. Lehmann, C. Steiner and A. WinklerPrins (eds) *Terra Preta Nova: A Tribute to Wim Sombrock*, Springer, Berlin, 473-486.

+Lehmann J., Joseph S. (2009). *Biochar for environmental management, science and technology*; Earthscan Publ. London, U.K.

- +Lehmann J., Rillig M.C., Thies J., Masiello C.A., Hockaday W.C., Crowley D. (2011). Biochar effects on soil biota-A review. *Soil Biology and Biochemistry* 43(9), 1812–1836.
- +Li J., Li Y., Wu M., Zhang Z., Lü J. (2013). Effectiveness of low-temperature biochar in controlling the release and leaching of herbicides in soil. *Plant Soil* 370, 333–344.
- +Li K., Liu W., Xu D., Lee S. (2003). Influence of organic matter and pH on bentazone sorption in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(18), 5362–5366.
- +Li K., Xinga B., Torelloa W.A. (2005). Effect of organic fertilizers derived dissolved organic matter on pesticide sorption and leaching. *Environmental Pollution* 134, 187–194.
- +Liang, B., Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Grossman, J., O'Neill, B., Skjemstad, J.O., Thies, J., Luizao, F.J., Petersen, J., Neves, E.G. (2006). Black carbon increases cation exchange capacity in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 70, 1719-1730.
- +Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148, 350–382.
- +Liesch A.M., Weyers S.L., Gaskin J.W., Das K.C. (2010). Impact of two different biochars on earthworm growth and survival. *Annals of Environmental Science* 4, 1–9.
- +Liu Y., Yang M., Wu Y., Wang H., Chen Y., Wu W. (2011). Reducing CH₄ and CO₂ emissions from waterlogged paddy soil with biochar. *J. Soils Sediments* 11, 930-939.
- +Lombardi A.T., Jardim W.F. (1999). Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine and terrestrial organic materials. *Wat. Res.* 32(2), 512-520.
- +López-Piñeiro A., Albarrán A., Rato Nunes J.M., Barreto C. (2008). Short and medium-term effects of two-phase olive mill waste application on olive grove production and soil properties under semiarid Mediterranean conditions. *Bioresour. Technol.* 99, 7982–7987.
- +Lozano-García B., Parras-Alcántara L., Carrillo de Albornoz M. del Toro. (2011). Effects of oil mill wastes on surface soil properties, runoff and soil losses in traditional olive groves in southern Spain. *Catena* 85, (3), 187-193.

+Lü J., Li J., Li Y., Chen B., Bao Z. (2012). Use of rice straw biochar simultaneously as the sustained release carrier of herbicides and soil amendment for their reduced leaching. *Journal of agricultural and food chemistry*; 60(26), 6463–6470.

+Mandelbaum R.T., Allan D.L., Wackett L.P. (1995). Isolation and Characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes s-triazine herbicide atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 4, 1451.

+Mandelbrot, B.B. (1975). Stochastic-models for earths relief, shape and fractal dimension of coastlines, and number-area rule for islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72, (10), 3825-3828.

+Mandelbrot, B.B. (1982). *The fractal geometry of nature*. Freeman. San Francisco.

+Mansour M., Feicht E., Mealier P. (1989). Improvement of the photostability of selected substances in aqueous medium. *Toxicol. Environ. Chem.* 20/21, 139-147.

+Manyà J.J. (2012). Pyrolysis for biochar purposes: A need to establish current knowledge gaps and research needs. *Environ. Sci. Technol.* 46 7939–7954.

+Marinari S., Liburdi K., Fließbach A., Kalbitz K. (2010). Effects of organic management on water-extractable organic matter and C mineralization in European arable soils. *Soil and Tillage Research* 106(2), 211–217.

+Marschner B., Kalbitz B. (2003). Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211-235.

+Martin S.M., Kookana R.S., Van Zwieten L., Krull E. (2012). Marked changes in herbicide sorption-desorption upon ageing of biochars in soil. *Journal of hazardous materials*, 231-232:70–78.

+Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G., Swift, M.J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277, 504-509.

+Maxwell K., Johnson G.L. (2000). Review. Chlorophyll fluorescence. A practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659–668.

+Matteson G.C., Jenkins B.M. (2007). Food and processing residues in California: Resource assessment and potential for power generation. *Bioresource Technology* 98, 3098-3105.

+McCarthy M., Hedges J., Benner R. (1996). Major biochemical composition of dissolved high molecular weight organic matter in seawater. *Marine Chemistry* 55, 3-4, 281-297.

+Mekki A., Dhouib A., Sayadi S. (2013). Effects of olive mill wastewater application on soil properties and plants growth. *International journal of recycling of organic waste in agriculture* 2:15.

+Miltner A., Bombach P., Schmidt-Brücken B., Käster M. (2012). SOM genesis: microbial biomass as a significant source. *Biogeochemistry* 111, 41-55.

+Miyazaki Y. (1967). Nougyou-Zennsho [Encyclopedia of Agriculture], vol 1, 91-104, in 12-volume Nihon Nousho Zenshu [Complete Works of Ancient Agricultural Books in Japan], Nouryoson Bunka Kyokai, Tokyo (in Japanese).

+Moorman T. B., Cowan J. K., Arthur E. L., Coats J. R. (2001). Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils* 33, 6, 541-545.

+Morley, J. (1927). Following through with grass seeds. *The National Greenkeeper* 1, 1, 15.

+Müller K., Magesan G.N., Bolan N.S. (2007). A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 120(2-4), 93–116.

+Murray R.S., Coughlan K.J., Quirk J.P. (1985). Nitrogen sorption isotherms and the microstructure of vertisols. *Aust. J. Soil Res.* 23, 137-149.

+Muyzer G., de Waal E.C., Uitterlinden A.G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 695–700.

+Nasini L., Gigliotti G., Balduccini M.A., Federici E., Cenci G., Proietti P. (2013). Effect of solid olive-mill waste amendment on soil fertility and olive (*Olea europaea* L.) tree activity. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 164, 292–29.

+Nebbioso A., Piccolo A. (2013). Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405(1):109–24.

+Negre M., Schulten H.R., Gennari M., Vindrola D. (2001). Interaction of imidazolinone herbicides with soil humic acids. Experimental results and molecular modeling. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes* 36, 2, 107-125.

+Novak J.M., [Busscher W.J.](#), [Watts D.W.](#), [Amonette J.E.](#), [Ippolito J.E.](#), [Lima J.E.](#), [Gaskin J.](#), [Das K.C.](#), [Steiner C.](#), [Ahmedna M.](#), [Rehrah D.](#), [Schomberg H.](#) (2012). Biochars impact on soil-moisture storage in an Ultisol and two Aridisols. *Soil Sci.* 177, 310–320.

+Oades J. M. (1989). An introduction to organic matter in mineral soils. *Minerals in Soils Environments* (eds. J. B. Dixon y S. B. Weed), 2nd Ed. Madison WI, 89-159.

+Ohno T. (2002). Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 36, 742-746

+Ohno T., He Z., Sleighter R.L., Honeycutt C.W., Hatcher P.G. (2010). Ultrahigh resolution mass spectrometry and indicator species analysis to identify marker components of soil- and plant biomass- derived organic matter fractions. *Environmental Science and Technology* 44(22), 8594–8600.

+Osgerby J. M. (1970). Sorption of un-ionized pesticide by soils. *Sorption and Transport Processes in soils.* SCI Monography 37, 63-78.

+Packer J. L., Werner J. J., Latch D. E., McNeill K., Arnold W. A. (2003). Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen. *Aquat. Sci.* 65, 342–351.

+Padovani L., Capri E., Padovani C., Puglisi E., Trevisan M. (2006). Monitoring tricyclazole residues in rice paddy watersheds. *Chemosphere* 62(2):303–314.

+Parker L.W., Doxtader K.G. (1983). Kinetics of the microbial degradation of 2,4-D in soil: effects of temperature and moisture. *J. Env. Qual.* 12, 553-558.

+Paredes M.J., Moreno E., Ramos-Cormenzana A., Martínez J. (1987). Characteristics of soil after pollution with wastewaters from olive oil extraction plants. *Chemosphere* 16, 1557–1564.

+Pareja L., Colazzo M., Pe A., Besil N., Heinzen H., Bo B., Cesio V., Fernández-Alba A.R. (2012). Occurrence and distribution study of residues from pesticides applied under controlled conditions in the field during rice processing. *Journal of agricultural and food chemistry* 60, 4440-4448.

+Penuela G. A., Barceló D. (1998). Application of C-18 disks followed by gas chromatography techniques to degradation kinetics, stability and monitoring of endosulfan in water. *Journal of Chromatography A* 795, 1, 93-104.

+Peschka M., Petrovic M., Knepper T.P., Barceló D. (2007). Determination of two phototransformation products of bentazone using quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 1227–1234.

+Picó Y., Molto J. C., Redondo M. J., Viana E., Manes J., Font G. (1994). Monitoring of the pesticide levels in natural waters of the valencia community spain. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 53, 230-237.

+Pignatello J.J., Xing B.S. (1996). [Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles.](#) *Environmental Science & Technology* 30, 1, 1-11.

+Pignatello J.J., Kwon S., Lu Y. (2006). The effect of natural organic substances on the surface and adsorptive properties of environmental black carbon (Char): attenuation of surface activity by humic and fulvic acids. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7757–7763.

+Pinna M.V., Zema M., Gessa C., Pusino A. (2007). Structural elucidation of phototransformation products of azimsulfuron in water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6659–6663.

+Pusino A., Braschi I., Gessa C. (2000). Adsorption and degradation of triasulfuron on homoionic montmorillonites. *Clays and Clay Minerals* 48(1), 19–25.

+ Pusino A., Pinna M.V., Gessa C. Azimsulfuron sorption-desorption on soil. (2004). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 3462–3466.

+Racke K.D. (1990). [Implications of enhanced biodegradation for the use and study of pesticides in the soil environment.](#) *ACS Symposium Series* 426, 269-282.

+Reemtsma T., Bredow A., Gehring M. (1999). The nature and kinetics of organic matter release from soil by salt solutions. *European Journal of Soil Science* 50, 1, 53-64.

+Reichenberger S., Bach M., Skitschak A., Frede H.G. (2007). Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness, a review. *Sci. Total Environ.* 384, 1–35.

+Reid B.J., Jones K.C., Semple K.T. (2000). Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments: a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environ. Pollut.* 108, 103–112.

+Retan G.A. (1915). Charcoal as a means of solving some nursery problems. *Forestry Quarterly* 13, 25-30.

+Roberts D., Knuteson R., Jackson R., Del Re A., Capri E., Padovani L., Trevisan M. (2003). The dissipation of penoxsulam in flooded rice fields. Pesticide in air, plant, soil and water system. Proceedings of the XII Symposium Pesticide Chemistry, Piacenza, Italy, 4–6 June, pp. 349–357.

+Rodríguez-Cruz M.S., Jones J.E., Bending G.D. (2006). Field-scale study of the variability in pesticide biodegradation with soil depth and its relationship with soil characteristics. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 2910–2918.

+Rodriguez-Lucena P., Hernández D., Hernandez-Apaolaza L., Lucena J. (2010). Revalorization of a two-phase olive mill waste extract into a micronutrient fertilizer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, (2), 1085-1092.

+Roig N., Sierra J., Martí E., Nadal M., Schuhmacher M., Domingo J.L. (2012). Long-term amendment of Spanish soils with sewage sludge: Effects on soil functioning. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 158, 41–48.

+Romero E., Sánchez-Rasero F., Peña A., de la Colina C., Dios G. (1996). Bentazone Leaching in Spanish Soils. *Pesticide Science* 47, 7–15.

+Ronsse F., Van Hecke S., Dickinson D., Prins W. (2013). Production and characterization of slow pyrolysis biochar: influence of feedstock type and pyrolysis conditions. *GCB Bioenergy* 5, 104–115.

+Rousidou C., Papadopoulou K., Zervakis G., Singh B.K., Ehaliotis C., Karpouzas D.G. (2010). Repeated application of diluted olive mill wastewater induces changes in the structure of the soil microbial community. *Eur. J. Soil Biol.* 46, 34–40.

+Russell J.D., Cruz M.I., White J.L. (1968). The adsorption of 3-aminotriazole by montmorillonite. *J. Agric. Food Chem.* 16, 21-24.

+Rutherford D. W., Chiou C. T., Kile D. E. (1992). Influence of soil organic matter composition on the partition of organic compounds. *Environmental science & technology* 26, 2, 336-340.

+Rutherford D.W., Wershaw R.L., Cox L.G. (2004). Changes in composition and porosity occurring during the thermal degradation of wood and wood components. *Scientific Investigations Report* 2004-5292.

+Sahrawat K.L. (2004). Organic matter accumulation in submerged soils. *Advances in Agronomy* 81, 169–201.

+Sánchez-Carmanzano M., Sánchez-Martín M.J., y Crisanto T. (1995). Toxicological & Environmental Chemistry 47, 203-208.

+Sánchez-Carmanzano M., Iglesias-Jiménez E., Sánchez-Martín M.J. (1997). City refuse compost and sodium dodecyl sulphate as modifiers of diazinon leaching in soil. *Chemosphere* 35, 3003–3012.

+Sánchez-Monedero M.A., Cayuela M.L., Mondini C., Serramia N., Roig A. (2008). Potential of olive mill wastes for soil C sequestration. *Waste Manage.* 28, 767–773.

+Schmidt M.W.I., Noack A.G. (2000). Black carbon in soils and sediments: Analysis, distribution, implications and current challenges. *Global Biogeochemical Cycles* 14, 777-794.

+Schnitzer M., Khan S. U. (1972). Humic substances in the environment. Ed. Marcel Dekker, New York.

+Schwanninger M., Rodrigues J.C., Pereira H., Hinterstoisser B. (2004). Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. *Vibrational Spectroscopy* 36(1), 23–40.

+Sciubba L., Cavani L., Negroni A., Zanaroli G., Fava F., Ciavatta C., Marzadori C. (2014). Changes in the functional properties of a sandy loam soil amended with biosolids at different application rates. *Geoderma* 221–222, 40–49.

+Sharma R.K., Wooten J.B., Baliga V.L., Lin X., Geoffrey Chan W., Hajaligol M.R. (2004). Characterization of chars from pyrolysis of lignin. *Fuel* 83(11-12), 1469–1482.

+Sheldrick B.H., Wang C. (1993). Particle-size distribution. In: Carter, M. R. (Ed.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Lewis Publishers: Ann Arbor, MI, pp. 499–511.

+Sheng G., Yang Y., Huang M., Yang K. (2005). Influence of pH on pesticide sorption by soil containing wheat residue-derived char. *Environmental Pollution* 134, 457–463.

+Schwarz J.L., Kowalczyk P., Kaczmarek S., Cota GF, Mitchell B.C., Kahru M., Chavez F.P., Cunningham A., McKee D., Gege P., Kishino M., Phinney D.A., Raine B. (2002). Two

models for absorption by coloured dissolved organic matter. *Oceanologia* 44 (2), 209-241.

+Scow K. M., Hutson J. (1992). Effect of Diffusion and Sorption on the Kinetics of Biodegradation - Theoretical Considerations. *Soil Science Society of America Journal*, 56, 1, 119-127.

+Senesi N., Miano T.M., Provenzano M.R., Brunetti, G. (1991). Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.* 152 (4), 259-271.

+Senesi N. (1992). Binding Mechanisms of Pesticides to Soil Humic Substances. *Science of the Total Environment* 123, 63-76.

+Serrano J.L. (2002). Información procedente del programa de vigilancia de intoxicaciones agudas por plaguicidas en Almería (2000-2002). *Jornada Científica sobre Vigilancia de Intoxicaciones por Plaguicidas y Exposición Ocasional*. Granada. 2002.

+Sheldrick B.H., Wang C. (1993). Particle-size distribution. In *Soil Sampling and Methods of Analysis*; Carter, M. R., Ed.; Lewis Publishers: Ann Arbor, MI 1993; pp 499-511.

+Shen Y.H. (1999). Sorption of natural dissolved organic matter on soil. *Chemosphere* 38 (7), 1505-1515.

+Si Y., Zhang J., Wang S., Zhang L., Zhou D. (2006). Influence of organic amendment on the adsorption and leaching of ethametsulfuron-methyl in acidic soils in China. *Geoderma* 130, 66-76.

+Singh B.K., Walker A., Wright D.J. (2001). Degradation of pesticides in combination and their effect on soil microbial activity. *Pesticide Behaviour in Soils and Water*. British Crop Protection Council Symposium Proceedings, 78, 145-150.

+Singh B., Singh B.P., Cowie A.L. (2010). Characterization and evaluation of biochars for their application as a soil amendment. *Aust. J. Soil Res.* 48, 516–525.

+Singh N. (2002). Sorption behavior of triazole fungicides in Indian soils and its correlation with soil properties. *J. Agr. Food Chem.* 50, 6434–6439.

+Singh S., Mishra R. Singh A., Ghoshal N., Singh, K.P. (2009). Soil physicochemical properties in a grassland and agroecosystem receiving varying organic inputs. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73, 1530-1538.

+Skjemstad J.O., Clarke P., Taylor J.A., Oades J.M., McClure S.G. (1996). The chemistry and nature of protected carbon in soil. *Australian Journal of Soil Research* 34, 251-271.

+Sohi S.P., Krull E., Lopez-Capel E., Bol R. (2010). A review of biochar and its use and function in soil. In *Advances in Agronomy*, Volume 105; Burlington: Academic Press 47–82.

+Spark K.M., Swift R.S. (1994). Investigation of some of the parameters affecting the fluorescence spectra of humic substances. *Humic Substance in The Global Environment and Implications on Human Health*. Elsevier, Amsterdam, 153-160.

+Spokas K.A., Koskinen W.C., Baker J.M., Reicosky D.C. (2009). Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a Minnesota soil. *Chemosphere* 77 574–581.

+Stefke B., Windeisen E., Schwanninger M., Hinterstoisser B. (2008). Determination of the weight percentage gain and of the acetyl group content of acetylated wood by means of different infrared spectroscopic methods. *Anal. Chem.* 80, 1272–1279.

+Steiner C., Teixeira W.G., Lehmann J., Nehls T., Macedo J.L.V., Blum W.E.H, Zech W. (2007). Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. *Plant and Soil* 291, 275-290.

+Stevenson F.J. (1994). *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.

+Stocking M.A. (2003). Tropical soils and food security: The next 50 years, *Science* 302, 1356-1359.

+Sudo M., Goto Y., Okajima T., Horiuchi R., Odani H. (2012). *Journal of Pesticide Science* 37, 2, 140-147.

+Sun K., Keiluweit M., Kleber M., Pan Z., Xing B. (2011). Sorption of fluorinated herbicides to plant biomass-derived biochars as a function of molecular structure. *Bioresource Technol.* 102, 9897–9903.

+Sun K., Gao B., Ro K.S., Novak J.M., Wang Z., Herbert S., Xing B. (2012a). Assessment of herbicide sorption by biochars and organic matter associated with soil and sediment. *Environmental Pollution* 163, 167-173.

+Sun H., Hockaday W.C., Masiello C.A., Zygourakis K. (2012b). Multiple controls on the chemical and physical structure of biochars. *Ind. Eng. Chem. Res.* 51, 3587–3597.

+Sun K., Kang M., Zhang Z., Jin J., Wang Z., Pan Z., Xu D., Wu F., Xing B. (2013). Impact of deashing treatment on biochar structural properties and potential sorption mechanisms of phenanthrene. *Environmental Science and Technology* 47(20), 11473–11481.

+Tanji K., Valoppi L. (1989). Groundwater contamination by trace elements. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 26, 229-274.

+Thevenot M., Dousset S., Hertkorn N., Schmitt-Kopplin P., Andreux F. (2009). Interactions of diuron with dissolved organic matter from organic amendments. *The Science of the Total Environment* 407(14), 4297–302.

+Thomas R. G. (1982). Volatilization from soil. WJ Lyman, WP Reehl, and DH Rosenblatt eds. *Handbook of chemical property estimations methods*. New York, McGraw Hill, 1-50.

+Thomsen A.B., Henriksen K., Grøn C., Møldrup P. (1999). Sorption, transport, and degradation of quinoline in unsaturated soil. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2891-2898.

+Thurman, E. M. (1985). *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Nijhoff, M., Junk, W. Dordrecht, The Netherlands.

+Tomlin C. (ED.) *The Pesticide Manual*. 14th edn, 2006. British Crop Protection Council, Farnham, Surrey.

+Traina S.J., Novak J. y Smeck N.E. (1990). An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. *Journal of Environmental Quality* 19, 1, 151-153.

+Tryon E.H. (1948). Effect of charcoal on certain physical, chemical, and biological properties of forest soils. *Ecological Monographs* 18, 81-115.

+Valle A., Boschini G., Negri M., Abbruscato P., Sorlini C., D'Agostina A., Zanardini E. (2006). The microbial degradation of azimsulfuron and its effect on the soil bacterial community. *Journal of Applied Microbiology* 101, 443–452.

- +Van Zwieten L., Kimber S., Morris S., Chan K.Y., Downie A., Rust J., Joseph S., Cowie A. (2010). Effects of biochar and slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performances and soil fertility. *Plant Soil* 327, 235–246.
- +Vidal J.L.M., Frias M.M., Frenich A.G., Olea-Serrano F., Olea N. (2002). Determination of endocrine-disrupting pesticides and polychlorinated biphenyls in human serum by GC-ECD and GC-MS-MS and evaluation of contributions to the uncertainty of the results. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 372, 7-8, 766-775.
- +Vieublé-Gonod L., Benoit P., Cohen N., Houot S. (2009). Spatial and temporal heterogeneity of soil microorganisms and isoproturon degrading activity in a tilled soil amended with urban waste composts. *Soil Biology and Biochemistry* 2009; 41(12):2558–2567.
- +Von Caemmerer S., Farquhar G.D. (1981). Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 377–387.
- +Wagner S.C., Zablotowicz R.M., Gaston L.A., Locke M.A., Kinsella J. (1996). Bentazon Degradation in Soil: Influence of Tillage and History of Bentazon Application. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1593-1598.
- +Walkley A., Black J.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37, 29–38.
- +Wang J., Zhang M., Xiong Z., Liu P., Pan G. (2011). Effects of biochar addition on N₂O and CO₂ emissions from two paddy soils. *Biol. Fertil. Soils* 47, 887–896.
- +Wang X., Cammeraat L.H., Wang Z., Zhou J., Goversb G., Kalbitz K. (2013). Stability of organic matter in soils of the Belgian Loess Belt upon erosion and deposition. *European Journal of Soil Science* 64, 219–228.
- +Wardle D.A., Zackrisson O., Nilsson M.C. (1998). The charcoal effect in boreal forests: mechanisms and ecological consequences. *Oecologia* 115, 419–426.
- +Washburn E.W. (1921). The dynamics of capillary flow. *Phys. Rev.* 17, 273–83.
- +Wauchope R.D. (1978). Pesticide Content of Surface-Water Draining from Agricultural Fields - Review. *Journal of Environmental Quality* 7, 4, 459-472.

+Wauchope R.D., Myers R.S. (1985). Adsorption-desorption kinetics of atrazina and linuron in freshwater-sediment aqueous slurries. *Journal of Environmental Quality* 14, 1, 132-136.

+Wauchope R.D., Yeh S., Linders J., Kloskowski R., Tanaka K., Rubin B., Katayama A., Kördel W., Gerstl Z., Lane M., Unsworth J.B. (2002). **Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability.** *Pest Management Science* 58, 419-445.

+Weber J.B. (1972). Interaction of organic pesticides with particulate matter in aquatic and soil systems. In *Fate of Organic Pesticides in the Aquatic Environment. Advances in Chemistry Series, Number III*, American Chemical Society, USA, pp. 55–120.

+Weber J.B., Swain L.R., Streck H.J., Sartori. (1980). Herbicide mobility in soil leaching columns. *Research Methods in Weed Science*. N.D. Camper, 189-200.

+Weber J.B. (1982). Ionization and adsorption-desorption of tricyclazole by soil organic matter, montmorillonite clay and Cape Fear sandy loam soil. *J. Agric. Food Chem.* 30, 584–588.

+Wen B., Huang R., Li R., Gong P., Zhang S., Pei Z., Fang J., Shan X.-Q., Khan S.U. (2009). Effects of humic acid and lipid on the sorption of phenanthrene on char. *Geoderma* 150(1-2), 202–208.

+Witt C., Gaunt J.L., Galicia C.C., Ottow J.C.G., Neue H.U. (2000). A rapid chloroform-fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils. *Biology and Fertility of Soils* 30, 510–519.

+Worrall F., Parker A., Rae J.E., John A.C. (1999). A study of suspended and colloidal matter in the leachate from lysimeters and its role in pesticide transport. *J. Environ. Qual.* 28, 595-604.

+WRB, I. W. G., World Reference Base for Soil Resources. FAO: Rome, 2006.

+Wu Q., Riise G., Kretzschmar R. (2003). Size distribution of organic matter and associated propiconazole in agricultural runoff Material. *J. Environ. Qual.* 32, 2200–2206.

+Wu W., Yang M., Feng Q., McGrouther K., Wang H., Lu H., Chen Y. (2012). Chemical characterization of rice straw-derived biochar for soil amendment. *Biomass Bioenerg.* 47, 268–276.

+Xu G., Lv Y., Sun J., Shao H., Wei L. (2012). Recent advances in biochar applications in agricultural soils: benefits and environmental implications. *CLEAN - Soil, Air, Water* 40(10), 1093–109.

+Yang Y., Sheng G. (2003). Enhanced pesticide sorption by soils containing particulate matter from crop residue burns. *Environmental Science and Technology* 37(16), 3635–3639.

+Yang X.B., Ying G.G., Peng P.A., Wang L., Zhao J.L., Zhang L.J., Yuan P., He H.P. (2010). Influence of biochars on plant uptake and dissipation of two pesticides in an agricultural soil. *J. Agric. Food Chem.* 58, 7915–7921.

+Young I.M., Crawford J.W. (1991). The fractal structure of soil aggregates: its measurement and interpretation. *J. Soil Sci.* 42, 187-192.

+Yu X.-Y., Ying G.-G., Kookana R.S. (2009). Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to soil. *Chemosphere* 76(5), 665–671.

+Yu X.-Y., Pan L., Ying G., Kookana R.S. (2010). Enhanced and irreversible sorption of pesticide pyrimethanil by soil amended with biochars. *J. Environ. Sci.* 22, 615–620.

+Yu X.-Y., Mu C.-L., Gu C., Liu C., Liu X.-J. (2011). Impact of woodchip biochar amendment on the sorption and dissipation of pesticide acetamiprid in agricultural soils. *Chemosphere* 85(8), 1284–9.

+Zech W., Haumaier L., Guggenberger G., Gilsotres F., Arai S. (1994). Changes in carbon species distribution of humic substances with depth in mineral soils of various origin. Humic substances in the global environment and implications on human health, 445-450.

+Zertal A., Jacquet M., Lavedrine B., Sehili T. (2005). [Photodegradation of chlorinated pesticides dispersed on sand](#). *Chemosphere* 58 (10), 1431-1437.

+Zhang H.X., Huang X., Mei P., Li K.H., Yan C.N. (2006). Studies on the interaction of tricyclazole with β -cyclodextrin and human serum albumin by spectroscopy. *J. Fluoresc.* 16, 287–294.

+Zhang P., Sheng G., Wolf D.C., Feng Y. (2004). Reduced biodegradation of benzonitrile in soil containing wheat-residue-derived ash. *J. Environ. Qual* 33, 868–872.

+Zhang P., Sun H., Yu L., Sun T. (2013). Adsorption and catalytic hydrolysis of carbaryl and atrazine on pig manure-derived biochars: Impact of structural properties of biochars. *Journal of Hazardous Materials* 244-245, 217-224.

+Zhang Z.Z., Sparks D.L., Scrivner N.C. (1993). Sorption and desorption of quaternary amine cations on clays. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1625-1631.

+Zhao M.X., Zhou J.B., Kalbitz K. (2008). Carbon mineralization and properties of water-extractable organic carbon in soils of the south Loess Plateau in China. *European Journal of Soil Biology* 44, 158–165.

+Zsolnay A., Steindl H. (1991). Geovariability and biodegradability of the water-extractable organic material in an agricultural soil. *Soil Biology & Biochemistry* 23, 11, 1077-1082.

+Zsolnay A., Görlitz H. (1994). Water extractable organic matter in arable soils: effects of drought and long-term fertilization. *Soil Biology & Biochemistry* 26 (9), 1257–1261.

+Zsolnay A. (1996). Dissolved humus in soil waters. Piccolo, A. (Ed.) *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Elsevier, New York.

+Zsolnay A., Baigar E., Jiménez M., Steinweg B., Saccomandi F. (1999). Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38(1), 45–50.

+Zsolnay A. (2003). Dissolved organic matter: artefacts, definitions and functions. *Geoderma* 113, 187– 209.

<http://www.internationaloliveoil.org>. International Olive Council.

Agradecimientos

Esta es para mí la parte más difícil del manuscrito, pues no sé muy bien por dónde empezar ni por dónde terminar de agradecer. Cuatro años recorridos y un gran número de experiencias y emociones. Entre ellas, no han faltado la decepción, la impotencia y la frustración, aunque siempre han sido bien cubiertas por la alegría de ver el trabajo publicado, por el apoyo de mis directoras de tesis (Lucía Cox y Mari Carmen Hermosín) y de Juan Cornejo, que con su paciencia, experiencia y buen hacer han llevado a buen puerto este proyecto, por los ánimos de los compañeros con los que he compartido mi trabajo (aquí en el IRNAS y en el ESS-IBED de la Universidad de Ámsterdam) y, sobre todo, por el amor y paciencia de mi familia y mis parejas.

En este período de mi vida también he tenido la suerte de vivir la recuperación de mi hermano pequeño, tras una enfermedad que puso en grave peligro su salud. He tenido la suerte de viajar a la India, a Patagonia y a los EEUU. He tenido la suerte de conocer a personas increíbles y muy inspiradoras. La suerte de poder pagar el alquiler del piso donde vivo, y donde tengo mi estudio de pintura, así como poder compartirlo con bellas personas. He tenido el placer y la satisfacción de trabajar en centros de investigación extranjeros, llevando a cabo dos estancias en la Universidad de Ámsterdam y una más prevista para este verano en la Universidad Estatal de Oregón. He disfrutado de estupendos fines de semana, y de algún que otro puente, en compañía de mis mejores amigos, haciendo lo que más nos gusta: subir paredes, cerros y montañas. Todas estas experiencias han contribuido a forjar mi persona y mi vocación, y a darme la motivación para llegar al final de este proyecto, el principio de mi carrera como investigador.

Por todo ello, y para no dejar sin mencionar a nadie, quiero dar las GRACIAS en voz muy alta, con una gran sonrisa y alegría en los ojos, a todos aquellos que de alguna u otra forma me han acompañado, y tengo la esperanza de que este proceso haya servido para asentar las bases de otros muchos que nos esperan.

Manuel

